



Ecodynamique des composés poly- et perfluoroalkylés dans les écosystèmes aquatiques

Gabriel Munoz

► To cite this version:

Gabriel Munoz. Ecodynamique des composés poly- et perfluoroalkylés dans les écosystèmes aquatiques. Chimie analytique. Université de Bordeaux, 2015. Français. NNT : 2015BORD0414 . tel-01281581

HAL Id: tel-01281581

<https://theses.hal.science/tel-01281581>

Submitted on 2 Mar 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

PRESENTEE A

L'UNIVERSITE DE BORDEAUX

Ecole Doctorale des Sciences Chimiques

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

CHIMIE ANALYTIQUE ET ENVIRONNEMENTALE

PAR

Gabriel MUNOZ

**Ecodynamique des composés poly- et perfluoroalkylés
dans les écosystèmes aquatiques**

Soutenue le 16 décembre 2015 devant la Commission d'Examen :

MM.	AHRENS , Lutz	Enseignant-chercheur à SLU, Uppsala	<i>Examineur</i>
	BABUT , Marc	Ingénieur en chef IPEF, IRSTEA, Lyon	<i>Examineur</i>
	BUDZINSKI , Hélène	Directrice de recherche CNRS, Bordeaux	<i>Directrice de thèse</i>
	LABADIE , Pierre	Chargé de recherche CNRS, Bordeaux	<i>Encadrant de thèse</i>
	LE BIZEC , Bruno	Directeur du LABERCA, ONIRIS, Nantes	<i>Rapporteur</i>
	LEONARDS , Pim	Professeur à VU University, Amsterdam	<i>Rapporteur</i>
	SAUVÉ , Sébastien	Professeur à l'UdeM, Montréal	<i>Co-directeur de thèse</i>

THESE

PRESENTEE A

L'UNIVERSITE DE BORDEAUX

Ecole Doctorale des Sciences Chimiques

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

CHIMIE ANALYTIQUE ET ENVIRONNEMENTALE

PAR

Gabriel MUNOZ

**Ecodynamique des composés poly- et perfluoroalkylés
dans les écosystèmes aquatiques**

Soutenue le 16 décembre 2015 devant la Commission d'Examen :

MM.	AHRENS , Lutz	Enseignant-chercheur à SLU, Uppsala	<i>Examineur</i>
	BABUT , Marc	Ingénieur en chef IPEF, IRSTEA, Lyon	<i>Examineur</i>
	BUDZINSKI , Hélène	Directrice de recherche CNRS, Bordeaux	<i>Directrice de thèse</i>
	LABADIE , Pierre	Chargé de recherche CNRS, Bordeaux	<i>Encadrant de thèse</i>
	LE BIZEC , Bruno	Directeur du LABERCA, ONIRIS, Nantes	<i>Rapporteur</i>
	LEONARDS , Pim	Professeur à VU University, Amsterdam	<i>Rapporteur</i>
	SAUVÉ , Sébastien	Professeur à l'UdeM, Montréal	<i>Co-directeur de thèse</i>

- 2015 -

RÉSUMÉ

Les tensioactifs poly- et perfluoroalkylés (PFAS) sont des composés d'origine anthropique produits à partir des années 1950 et qui sont désormais considérés comme des polluants ubiquistes. La première partie de ce travail a consisté à optimiser et valider des procédures pour l'analyse ultra-trace des PFAS. Ces méthodes ont ensuite été utilisées afin d'apporter de nouveaux éléments de réponse sur l'occurrence et la dynamique des PFAS dans les environnements aquatiques. Une attention particulière a été accordée aux valeurs censurées (<LD). Dans les eaux de surface et les sédiments, à l'échelle nationale, le perfluorooctane sulfonate (PFOS) s'est avéré prédominant parmi les acides perfluoroalkylés (PFAA) considérés ; la fraction organique du sédiment est apparue un facteur de contrôle clé des teneurs sédimentaires. L'utilisation des cartes auto-organisatrices de Kohonen a facilité la synthèse des résultats et les comparaisons entre sites. A une échelle plus locale, ces travaux ont permis de cartographier la contamination sédimentaire d'un estuaire macrotidal et d'étudier les facteurs de contrôle de leur distribution. La dynamique spatio-temporelle des PFAS et leur transfert aux premiers maillons trophiques ont été évalués en milieu fluvial urbain (la Seine) et en milieu estuarien (la Gironde). La détermination des facteurs d'amplification trophique en estuaire de Gironde confirme le caractère bioamplifiable du PFOS et de certains PFAA à longue chaîne. Le dernier axe de ces travaux concernait la recherche de PFAS d'intérêt émergent zwitterioniques et cationiques ; des résultats préliminaires semblent dissiper les inquiétudes concernant leur potentiel de bioaccumulation.

Mots clés : pollution des écosystèmes aquatiques, contaminants d'intérêt émergent, tensioactifs fluoroalkylés, bioaccumulation, optimisation et validation de méthodes analytiques

Title: Environmental fate of poly- and perfluoroalkyl compounds in aquatic ecosystems

ABSTRACT

Poly- and perfluoroalkyl surfactants (PFAS) are anthropogenic compounds that have been used since the 1950s in a variety of applications and that have emerged as ubiquitously distributed contaminants. The first aim of this work was to optimize and validate analytical procedures for the trace-level determination of PFAS. These methods were then applied to various sets of environmental samples, providing new elements to document the occurrence and environmental fate of PFAS in aquatic ecosystems. In terms of statistical analyses, a special care has been devoted to incorporate non-detects (data <LOD). In French surface waters and sediments, perfluorooctane sulfonate (PFOS) was the prevailing perfluoroalkylated acid (PFAA); sediment organic carbon fraction was a key controlling factor of PFAS sedimentary levels. Kohonen self-organizing maps were used to highlight similarities and differences between sites, providing evidence for distinctive features, sometimes at watershed scale. A mapping of PFAS in sediments was established in a macrotidal estuary, along with their partitioning behavior in the water column. The spatio-temporal dynamics of PFAS and transfer to the first trophic levels were investigated in an urban freshwater hydrosystem (the Seine River) and in an estuarine environment (Gironde estuary). In the Gironde estuary, trophic magnification factors (TMF) were significantly >1 for PFOS and several long-chain PFAA, providing new evidence for their biomagnification. The last theme addressed in this work was the analysis of newly-identified cationic and zwitterionic PFAS ; preliminary evidence seem to dispel concerns about the bioaccumulation potential of the latter.

Keywords: environmental pollution, contaminants of emerging concern, fluoroalkylated surfactants, bioaccumulation, method optimization and validation

Université de Bordeaux

UMR EPOC 5805, équipe LPTC – 351 cours de la Libération, 33400, Talence, France

Université de Montréal

Département de Chimie – C.P. 6128, Succursale Centre-Ville, Montréal, QC, Canada, H3C 3J7

Contact

gabriel.munoz.phd@gmail.com

AVANT-PROPOS

Cette thèse de doctorat est le résultat d'une collaboration entre L'équipe de Physico- et Toxico-Chimie de l'environnement (LPTC) de l'UMR 5805 Environnements et Paléo-environnements Océaniques et Continentaux (EPOC) de l'Université de Bordeaux, et le département de chimie analytique environnementale de l'Université de Montréal (UdeM).

Naturellement, les travaux présentés dans le cadre de ce mémoire traduisent la contribution d'un grand nombre d'organismes et de personnes auxquels je souhaite exprimer toute ma gratitude.

IdEx Bordeaux (Mission Investissements d'avenir) a porté le financement de cette bourse de doctorat, de deux mobilités à l'UdeM, ainsi que l'inscription à des congrès et les frais y afférent. Il convient également de souligner le concours financier de nombreux partenaires, parmi lesquels l'Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques (ONEMA), les agences de l'eau, la Fondation Canadienne pour l'Innovation, le Fonds de Recherche du Québec, le CRSNG, les programmes INTERREG Orque SUDOE (SOE3/P2/F591), EC2CO-ecodyn (coordonné par le CNRS-INSU) et PolarTOP (ANR-10-CESA-0016), le LabEx COTE (ANR-10-LABX-45), la région Aquitaine, ainsi que l'Union Européenne (CPER pôle Aquitaine Analyse Environnement, FEDER). Nous tenons à remercier les sociétés Agilent Technologies, Phytronix Technologies et Thermo Fischer Scientific pour leur assistance technique et leur invitation à des séminaires.

Je remercie le Professeur **Bruno LE BIZEC**, directeur du LABERCA, laboratoire d'ONIRIS (Nantes), pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce travail en tant que rapporteur et président du jury, ainsi que **Pim LEONARDS**, professeur à l'Université libre d'Amsterdam (VU University), pour avoir évalué ce travail en tant que rapporteur. Je les remercie chaleureusement pour leur lecture attentive du manuscrit et les nombreux commentaires et questions qu'ils ont été amenés à formuler lors de l'oral de soutenance.

J'adresse également mes remerciements à **Lutz AHRENS**, enseignant-chercheur à l'Université d'Uppsala en Suède (SLU, Swedish University of Agricultural Sciences), et **Marc BABUT**, ingénieur en chef des ponts, des eaux et des forêts à IRSTEA (Lyon), pour avoir accepté d'évaluer ce travail en tant qu'examinateurs. Par ailleurs, je remercie **Marc** pour les échanges constructifs que nous avons pu avoir à l'occasion de l'écriture de publications concernant la bioaccumulation et la bioamplification des PFAS.

Mes remerciements s'adressent ensuite à mes directeurs et co-directeurs de thèse, **Hélène BUDZINSKI**, directrice de recherche CNRS, **Pierre LABADIE**, chargé de recherche CNRS, et **Sébastien SAUVÉ**, professeur à l'UdeM, pour la confiance qu'ils m'ont témoignée et pour le travail qu'ils m'ont permis d'accomplir à leurs côtés durant ces trois années. Je souhaiterais leur exprimer ma gratitude pour avoir réussi à faire de cette thèse un moment privilégié de construction et d'échange scientifique et humain. Je leur suis reconnaissant d'avoir permis la réalisation de cette thèse dans d'excellentes conditions, notamment par la haute qualité des équipements analytiques dont ils m'ont fait bénéficier. Je souhaiterais également les remercier pour m'avoir donné la possibilité de présenter ces résultats de recherche à l'occasion de nombreux congrès nationaux ou internationaux.

Hélène, merci de m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse. Merci de m'avoir permis de participer à tous ces projets, dont le plus emblématique restera sans doute la campagne prospective de 2012 que nous avons appelée en interne « Campagne Exceptionnelle ». Certains auront peut-être le vertige à la seule évocation des 700 analyses par classe de molécules, ou de ces fameux mails de suivi de traitement des échantillons intitulés d'un énigmatique « MAJ CAMP EX ESU DOM »... Plus sérieusement, je me souviens de ces réunions où chacun devait faire le point sur l'avancée des résultats ou les tests de validation en cours ; cet épisode aura donc été pour moi un formidable apprentissage en termes d'organisation et de méthode de travail. Merci également pour tes encouragements tout au long de la thèse ! Tu as toujours eu à cœur de transmettre ta passion de la chimie analytique environnementale, du travail assidu, et d'une rigueur et intégrité scientifiques sans failles. Je te remercie pour avoir facilité mon intégration au laboratoire par la participation à la vie de l'équipe, tâches ou projets communs, mais aussi bon nombre de moments de convivialité à l'occasion d'un repas d'équipe ou autour d'une élégante coupe de champagne...

Pierre, tu as été un encadrant extraordinairement impliqué dans ce travail, que ce soit pour me former aux extractions et analyses, ou m'orienter dans la planification des expériences et l'interprétation des résultats. Tu as toujours pris beaucoup de soin à la correction des différents manuscrits. Grâce à tes remarques j'espère avoir progressé vers un style d'écriture plus synthétique et efficace. Merci aussi pour avoir activement contribué à l'établissement de collaborations nationales et internationales dans le cadre de cette thèse. Merci pour ton implication sur le terrain, notamment comme chef de mission lors de la campagne HALOGIR où nous nous relayions tous les trois avec **Mathilde** pour assurer échantillonnages et filtrations dans la motivation et la bonne humeur, quel que soit l'état de la houle. Je te remercie pour tes encouragements et ton implication totale qui ont fait de ces trois années une expérience fort agréable à vivre.

Je remercie à nouveau **Sébastien SAUVÉ** pour avoir assumé la codirection de cette thèse, dans le cadre du partenariat international labellisé IdEx. **Sébastien**, merci pour ton accueil au sein de ton équipe de recherche et pour tes conseils lors de l'acquisition et l'interprétation des résultats. Merci aussi pour ta motivation constante à valoriser la production scientifique de ce travail, et pour avoir consacré du temps à la correction des articles. Dans le cadre de cette collaboration, tu as su œuvrer afin d'encourager la finalisation de trois projets distincts, ce qui n'était pas une mince affaire étant donné la courte durée de ces deux séjours. J'ai notamment pu bénéficier d'excellentes conditions matérielles et d'accessibilité aux instruments.

Merci à **Sung VO DUY**, agent de recherche à l'UdeM, qui a participé à l'acquisition des données durant ces deux séjours avec une disponibilité et une efficacité exceptionnelles. Un grand merci **Sung** car sans ton implication je n'aurais sans doute pas pu finaliser dans les délais impartis ! Merci aussi pour ta relecture attentive des articles, et pour toutes ces connaissances transmises avec autant de sollicitude.

A cette occasion, je tiens également à saluer les étudiants croisés à l'UdeM pour leur accueil chaleureux et la générosité dont ils ont su faire preuve pour faciliter mon accès aux équipements. Merci notamment à **Paul FAYAD**, **Audrey ROY-LACHAPELLE**, **Morgan SOLLIEC**, **Simon COMTOIS-MAROTTE** et **Hermann KABORE** ! Je me souviendrai des échanges que nous avons pu

avoir sur des sujets couvrant aussi bien les mystères de la LDTD et de l'Orbitrap, les us et coutumes du Québec et de la Bretagne, ou encore le syndrome du « maudit français »...

Je remercie l'ensemble des membres du Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ) pour leur accueil et leur générosité lors de mon passage à Québec. En premier lieu, j'adresse mes sincères remerciements à **Mélanie DESROSIERS**, écotoxicologue, pour m'avoir donné cette belle opportunité de travailler sur ce sujet et pour son aide et son implication. Merci **Mélanie** pour ta disponibilité, ton dynamisme et ta bonne humeur durant ma visite au CEAEQ. Pêle-mêle : nos discussions passionnées sur la faune du Québec et les prédateurs du porc-épic, la mission terrain le long de la rivière Chaudière, ou encore l'épisode de récupération des échantillons par moins 25°C (« tu devrais prendre une écharpe avec ton t-shirt... »). Je te remercie également pour ton œil critique et tes corrections sur l'article. Je remercie **Louis MARTEL**, de la Direction des expertises et des études, **Gaëlle TRIFFAULT-BOUCHET**, de la division écotoxicologie et évaluation du risque, et **Christian DEBLOIS**, de la division analyse chimique organique, pour leurs commentaires et corrections. Merci particulièrement à **Sylvain ROY** du ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs et à **Yvon RICHARD** de la Direction du suivi de l'état de l'environnement du MDDELCC et à tous ceux qui ont participé aux campagnes d'échantillonnage des poissons. Enfin, un clin d'œil à **Pierre-Luc CLOUTIER** pour sa contribution.

Pour conclure ce tour d'horizon du Québec j'adresse mes sincères remerciements à **Jinxia LIU**, professeure adjointe à l'Université de McGill à Montréal, pour sa collaboration active dans le cadre de trois projets réalisés lors de mon séjour à l'UdeM. **Jin**, thanks again to you and your team for providing us a large number of analytical standards! I am grateful for your help and dedication, as well as for your guidance on the Lac-Mégantic draft and two other manuscripts. A special thanks to **Sandra MEJIA-AVENDAÑO** for sharing insightful comments on how to extract cationic PFASs. My sincere thanks to **Jin** and her students for this friendly interlude in a restaurant downtown Vancouver...

Les articles présentés dans ce manuscrit sont en outre le fruit d'un travail collaboratif impliquant un grand nombre de co-auteurs. Merci à **Olivier CHASTEL** et **Sabrina TARTU** pour leur relecture attentive de l'article sur les plasmas d'oiseaux marins antarctiques. **Sabrina**, à l'avenir je ne confondrai plus « penguin » et « pinguin » – difficile il est vrai pour une plante tropicale de s'épanouir sous les quarantièmes rugissants... Merci à **Jean-Luc GIRAUDEL** de nous avoir fait partager son expertise sur le logiciel R et les cartes de Kohonen. J'adresse également mes remerciements à **Fabrizio BOTTA** et **François LESTREMAU** pour m'avoir donné l'occasion de travailler sur le projet de la campagne prospective de 2012. Cette collaboration a été très fructueuse et je les remercie pour avoir consacré une partie de leur temps à la lecture critique de trois articles s'y référant. Merci à **Benjamin LOPEZ** pour ses commentaires sur l'article « DOM », ainsi qu'à **Lise FECHNER** pour son retour constructif sur l'article « Biofilm ». Je remercie **Marc BABUT**, **Hilaire DROUINEAU**, **Jérémy LOBRY** et **Jonathan SELLESLAGH** pour les passionnantes discussions que nous avons menées sur les transferts trophiques, et pour leur relecture attentive des articles « PFC-Gironde ».

Merci également à tous ceux qui ont été amenés à contribuer à ces travaux de thèse. Merci à **Mariange CORNET** et **Hervé DERRIENNIC** pour leur assistance précieuse lors des missions sur le terrain. Merci à **Edith PARLANTI**, **Clara MICHAUD**, **Gwenaël ABRIL** et **Dominique POIRIER** pour les diverses analyses de carbone organique... Un grand merci à **Nathalie TAPIE** pour sa contribution

au projet « Pauillac », du maniement du filet à plancton aux nœuds de marin, en passant par la formation au tri des invertébrés en cave mission. Je la remercie pour ses encouragements sincères tout au long de ces trois années de thèse. Merci à **Marie-Hélène DÉVIER** pour sa participation active à l'organisation de la « campagne exceptionnelle ». Merci aux ingénieurs **Karyn LE MENACH**, **Sylvie AUGAGNEUR**, **Patrick PARDON** et **Emmanuel GENESTE** pour leur aide bienveillante lors des analyses, des maintenances, ou de la formation au contrôle qualité. **Sylvie**, merci pour ces moments de complicité en créole : *tchimbé red, pa moli (paské sé moli ki red !)*. Merci **Patrick** pour ta disponibilité et pour ta bonne humeur à toute épreuve ! Je remercie à nouveau **Karyn** (et **Mathilde**) pour ces pauses déjeuner où elles auront essayé de m'apprendre le nom de quelques légumes et autres graines sacrées aux noms difficilement prononçables... Un grand merci à **Mathilde LAUZENT** pour son amitié et sa contribution à ces travaux, que ce soit sur le terrain ou au laboratoire, et pour les bons moments partagés lors de la mission HALOGIR qui restera comme l'un des événements marquants de cette thèse. Merci **Mathilde** pour ton esprit d'aventure que j'ai pu apprécier lors des deux missions « vasières » et de la campagne sur le bateau ! Ni les crabes, ni les méduses, ni les vers polychètes, ni même les sables mouvants n'auront eu raison de notre détermination (Cf. le fameux « encordez-vous »). Je remercie **Virginie BOCQUET**, **Caroline SIMONNET-LAPRADE** et **Tony NÉMOUTHÉ** pour leur motivation et l'excellence de leur travail au cours de leurs stages. Merci à **Virginie** pour son aide lors des dissections de poissons et le nombre astronomique d'échantillons qu'elle a analysés en un temps record ! Un grand merci à **Caroline SIMONNET-LAPRADE** pour son implication totale lors de son stage sur la calibration POCIS dont elle a su gérer l'organisation et la réalisation avec une maturité et une efficacité remarquables. Merci **Caroline** pour ta contribution à l'article « micro-ondes », ainsi que pour ton soutien et ton amitié pendant ces années. Je remercie à nouveau **Karyn**, **Caroline** et **Mathilde** pour leur contribution aux analyses isotopiques. Merci à **Hugues BIJOUX** pour nos échanges sur les statistiques !

Je remercie en outre l'ensemble des personnels permanents ou simplement de passage au LPTC que j'ai eu le privilège de côtoyer au cours de ma thèse.

Merci à **Maylis SAINT HUBERT** et à **Nathalie GENESTE** pour leur accueil et leurs encouragements durant ces trois années.

Merci à **Laurent PELUHET** et **Ismael LETE-IBÁÑEZ** pour avoir tenté de m'apprendre quelques rudiments d'Euskera...

Parmi les stagiaires de passage en 2013, je remercie notamment **Manon TONNARD** et **Pierre LAMY** pour leur bonne humeur et les parties de tennis.

Merci aux techniciens et ingénieurs qui auront aussi partagé notre quotidien de la campagne exceptionnelle : **Caroline MARTIN**, **Anaïs SAINT-PAUL**, **Mohamed BENYAHIA**, **Thomas GENY**, **Guillaume LAURENT**, **Patrick POIAGHI**, **Baptiste POUSSET** et **Pierre VAN DELFT**.

Merci à **Mylène GODIN**, **Jérémy MARCHAND** et **Sébastien SCHRAMM** pour les discussions sur l'optimisation et la validation de méthodes analytiques...

Merci également à l'équipe de chimie atmosphérique pour son accueil : merci à **Eric VILLENAVE** ainsi qu'à **Emilie PERRAUDIN**, **Pierre-Marie FLAUD**, **Sophie TOMAZ** et **Julien KAMMER**.

Merci à **Laurine LE COADOU** et à **Valentin MEYNARD** pour leur bonne humeur communicative et leur engouement pour les casoars et autres espèces exotiques rarissimes !

Merci à **Thomas CORRALES** pour avoir honoré des commandes de pâtisseries en tous genres, y compris le gâteau de crêpes !

Un grand merci à **Delphine BERTIN**, qui aura su me faire partager son enthousiasme pour la biologie et les PFAS à l'occasion de sa venue au LPTC ou d'un congrès de la SETAC. Merci **Delphine** pour ton amitié, tes encouragements tout au long de la thèse, et ta présence à la soutenance, j'y ai été très sensible !

Merci à **Laura MOURET** pour son amitié et pour avoir éveillé mon intérêt pour la langue allemande ! Merci pour ta générosité, ta bonne humeur et ta modestie (« Non, non ! Je ne suis pas l'œil du professeur Xavier dans X-Men ! »).

Merci à **Justine CRUZ** qui a partagé mon quotidien de thésard pendant près de deux ans dans le bureau de la 202. Merci pour cette expérience commune sur le terrain ou au laboratoire ! Merci pour ces quelques fou-rires salvateurs, cet atelier de confection de macarons framboise-passion, et pour cette *torta de cenoura* dont tu as le secret !

Merci à **Nathalie DESGRANGES**, **Maximilien DELAFOULHOUZE**, **Julie PEDELUCQ**, **Jérémie PAROT**, **Perrine GAMAIN**, **Céline CHOLLET**, **Laura FUSTER** et **Vincent DUFOUR** pour ces sorties et moments de détente autour d'un verre ou d'un repas et qui ont jalonné ces années communes !

Un grand merci à **Claire GOUNY** et **Julien DUMERCQ** pour ces moments partagés à l'école d'été 2014 du LabEx COTE, ainsi que lors de l'atelier sur les réseaux trophiques à Cap Sciences.

Une pensée pour les anciens doctorants du LPTC, croisés au laboratoire ou à l'occasion d'un congrès : **Yann AMINOT**, **Angel BELLES**, **Marion-Justine CAPDEVILLE**, **Geoffroy DUORTE**, **Caroline GARDIA-PAREGE**, **Amélie GUILLON**, **Sophie LARDY-FONTAN**, **Matthieu RIVA**, **Coralie SOULIER**, **Anne TOGOLA**, **Perrine WUND**...

Merci enfin à mes parents et à ma sœur qui m'ont toujours aidé à réaliser mes ambitions. Merci pour le soutien moral et financier durant mes études. Merci pour avoir rendu possible en 2012 ce magnifique séjour ERASMUS à Madrid... Merci également pour ce pot de soutenance aux couleurs de la Caraïbe !

SOMMAIRE

RESUME/ABSTRACT	p 7
INTRODUCTION GENERALE	p 19
OBJECTIFS DE LA THESE	p 26
Chapitre I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	p 29
I.1. Eléments de contexte.....	p 31
I.1.a. Essor de la chimie du fluor.....	p 31
I.1.b. Diversité des PFAS – Synthèse, nomenclature, applications.....	p 34
I.2. Des polluants environnementaux d'intérêt émergent.....	p 50
I.2.a. Historique de l'émergence des PFAS comme polluants.....	p 50
I.2.b. Analyse ultra-trace des PFAS.....	p 56
I.2.c. Propriétés physico-chimiques.....	p 62
I.2.d. Occurrence dans les milieux eau et sédiment et facteurs de contrôle de leur distribution.....	p 65
I.2.e. Toxicité, toxico-cinétique, bioconcentration et organotropisme.....	p 76
I.2.f. Degré d'imprégnation des êtres vivants, bioaccumulation et bioamplification	p 80
Chapitre II. MATERIELS ET METHODES	p 89
II.1. Choix des PFAS étudiés.....	p 91
II.2. Sites d'échantillonnage et modèles biologiques.....	p 98
II.3. Prélèvement et conservation des échantillons.....	p 107
II.4. Protocoles de préparation des échantillons.....	p 113
II.5. Analyse instrumentale et quantification.....	p 117
II.6. Validation des méthodes analytiques.....	p 128
II.7. Contrôle qualité et traitement de données.....	p 135
Chapitre III. DEVELOPPEMENT ET VALIDATION DE METHODES POUR L'ANALYSE CIBLEE DES PFAS	p 141
III.1. Analyse des PFAS dans le muscle de poisson – Optimisation d'une méthode d'extraction assistée par micro-ondes.....	p 143
III.2. Détermination des PFAS dans le plasma d'oiseaux marins par extraction sur phase solide en ligne associée à la chromatographie liquide et à la spectrométrie de masse en tandem.....	p 157
III.3. Analyse des PFAS dans les matrices aqueuses par désorption thermique à diode laser (LDTD) couplée à la spectrométrie de masse haute résolution.....	p 180

Chapitre IV. DYNAMIQUE BIOGEOCHIMIQUE DES PFAS DANS LES MILIEUX AQUATIQUES CONTINENTAUX ET ESTUARIENS.....	p 201
IV.1. Une étude d'envergure nationale pour caractériser la distribution spatiale des PFAS et les déterminants de leur accumulation sédimentaire dans 133 fleuves et lacs de France métropolitaine.....	p 203
IV.2. Occurrence et devenir des PFAS dans les eaux souterraines, les eaux de surface et les sédiments en zone tropicale – Application aux Départements français d’Outre-Mer.....	p 223
IV.3. Cartographie des PFAS dans la colonne d’eau et le sédiment sur un gradient de salinité/turbidité dans un estuaire macrotidal et étude des facteurs de contrôle de leur distribution.....	p 243
 Chapitre V. TRANSFERT DES PFAS DU MILIEU AUX ORGANISMES – BIOACCUMULATION ET BIOAMPLIFICATION.....	 p 263
V.1. Variations saisonnières des PFAS en milieu urbain fortement impacté, la Seine, et transfert au biofilm périphytique.....	p 265
V.2. Suivi mensuel de la contamination de la colonne d’eau et des premiers maillons trophiques par les PFAS au niveau du site pilote de Pauillac (estuaire de Gironde).....	p 283
V.3. Bioamplification des PFAS en milieu estuarien : étude de cas du réseau trophique de la Gironde.....	p 302
 Chapitre VI. RECHERCHE DE PFAS D'INTERET EMERGENT ANIONIQUES, ZWITTERIONIQUES, CATIONIQUES.....	 p 323
VI.1. Etude préliminaire de l’occurrence de PFAS d’intérêt émergent en France métropolitaine....	p 325
VI.2. Emergence de tensioactifs polyfluoroalkylés anioniques, zwitterioniques et cationiques chez le meunier noir <i>Catostomus commersonii</i> suite à l’utilisation de mousses anti-incendie de type AFFF lors de l’accident ferroviaire de Lac-Mégantic (Québec, Canada).....	p 349
 Chapitre VII. SYNTHESE DES TRAVAUX.....	 p 371
VII.1. Optimisation et validation des méthodes analytiques.....	p 374
VII.2. Traitement de données.....	p 384
VII.3. Niveaux et profils moléculaires de PFAS.....	p 389
VII.4. Dynamique des PFAS dans le compartiment abiotique.....	p 396
VII.5. Transfert des PFAS du milieu aux organismes.....	p 402
VII.6. Recherche de composés fluoroalkylés d’intérêt émergent.....	p 405
 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	 p 411
BIBLIOGRAPHIE.....	p 421
ANNEXES.....	p 465

ABREVIATIONS

ACN : acétonitrile.

ANOVA : analyse de la variance.

APCI : ionisation chimique à pression atmosphérique.

BAF : facteur de bioaccumulation.

BMF : facteur de bioamplification.

BSAF : facteur de bioaccumulation biote-sédiment.

CAS : Chemical abstract service

CEAEQ : Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec

CNRS : Centre National de la Recherche Scientifique.

DDT : dichloro diphenyle trichloroéthane.

diPAP : phosphates de polyfluoroalkyles.

ESI : ionisation électrospray.

EtOAc : acétate d'éthyle.

EtOH : éthanol.

FOSA : perfluorooctane sulfonamide.

FTA : fluorotélomère sulfonamido amines.

FTAB : fluorotélomère sulfonamide bétaïnes.

FTB : fluorotélomère bétaïnes.

HDPE : polyéthylène haute densité.

HPLC-MS/MS : chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem.

INERIS : Institut National de l'Environnement industriel et des RISques.

IRMM : Institute for Reference Materials and Measurements.

IRSTEA : Institut national de la Recherche en Science et Technologies pour l'Environnement et l'Agriculture.

K_D : coefficient de partition eau-sédiment.

K_{oc} : coefficient de partition eau-sédiment corrigé par le taux de carbone organique.

K_{ow} : coefficient de partition octanol-eau.

KP (PK) : point kilométrique. Dans le cas du continuum Garonne-Gironde, le PK zéro est situé au niveau de la ville de Bordeaux. Les PK sont positifs vers l'aval (donc vers l'embouchure) et négatifs en amont. Dans le cas de la Rivière Chaudière, le PK zéro a été défini au niveau du barrage de Lac-Mégantic à l'endroit où la rivière Chaudière prend sa source.

LDTD : désorption thermique à diode laser.

LOD : limite de détection.

LOQ : limite de quantification.

LPTC : L'équipe de Physico et Toxico Chimie de l'environnement.

MDELC : Ministère du Développement Durable, de l'Environnement, et de la Lutte contre le Changement Climatique

MeOH : méthanol.

n_C : nombre d'atomes de carbone perfluoroalkylés.

NIST : National Institute of Standards and Technology.

OC (CO) : pourcentage massique de carbone organique.

OCP : pesticides organochlorés.

ONEMA : Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques.

ORQUE SUDOE : Observatoire de Recherche sur la Qualité de l'Environnement du grand Sud-Ouest Européen.

PAH (HAP) : hydrocarbures aromatiques polycycliques.

PBDE : éthers de biphényles polybromés.

PCA (ACP) : analyse en composantes principales.

PCB : polychlorobiphényles.

PCDD/PCDF : dioxines et furanes.

PFAA : acides perfluoroalkylés (PFSA et PFCA).

PFAS : composés poly- et perfluoroalkylés.

PFCA : acides perfluoroalkyle carboxyliques.

PFOA : acide perfluorooctanoïque.

PFOS : acide perfluorooctane sulfonique.

PFSA : acides perfluoroalkyle sulfoniques.

pKa : constante d'acidité.

pH : potentiel hydrogène ($-\log [H_3O^+]$), caractérise l'acidité d'un milieu aqueux.

POC (COP) : carbone organique particulaire.

POP : polluant organique persistant.

PP : polypropylène.

QqQ : triple quadripôle.

RSD (CV) : écart-type relatif (coefficient de variation).

S : salinité.

SD : écart-type standard.

SOM : « self-organizing map » (carte auto-organisatrice, Kohonen)

SPM (MES) : matières en suspension.

TMF : facteur de bioamplification trophique.

UdeM : Université de Montréal.

USEPA : Agence Américaine de Protection de l'Environnement.

WWTP (STEP) : Stations d'épuration.

Φ : fraction associée à la phase particulaire.

σ : constante de salinité.

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Contrairement à une idée communément répandue, la pollution n'est pas un phénomène récent. Le fait qu'une espèce vivante puisse induire des changements majeurs à l'échelle d'un ou plusieurs compartiments de la biosphère n'est pas non plus l'apanage de l'homme. S'il faut sans doute attendre plusieurs centaines de millions d'années après la formation géologique de la Terre pour voir l'apparition de conditions favorables à l'émergence de la vie, il convient de rappeler que les formes vivantes ont pu, à leur tour, avoir un impact sur la composition de l'atmosphère et sur le climat. Les conditions atmosphériques qui régnaient 3000 millions d'années (Ma) avant notre ère étaient probablement très différentes de celles connues à notre époque : le dioxygène (O_2) était quasi inexistant (contre 20,95 % actuellement) alors que le dioxyde de carbone abondait (Rye et al., 1995). Il y a environ 2400 Ma, commence une période appelée « Grande Oxydation » (Holland, 2002 ; Bekker et al., 2004) qui correspond à l'augmentation des taux d' O_2 atmosphériques (photosynthèse), et par ricochet de l'ozone (O_3) qui formera une couche protectrice contre les rayonnements ultraviolets nocifs (Berkner et Marshall, 1964). Ces changements atmosphériques majeurs, combinés à des transgressions marines, semblent avoir créé les conditions favorables à une accélération de la biodiversité, survenue à partir du Cambrien (-450 Ma) (von Bloh et al., 2003). A cinq reprises depuis lors, l'histoire de l'évolution a été ponctuée de crises majeures, la plus célèbre étant celle survenue à la frontière Crétacé-Tertiaire (-65 Ma) marquant la disparition d'un grand nombre d'espèces emblématiques, ordres (ex : *Pterosauria*, *Plesiosauria*) et super-ordres (ex : *Dinosauria*) (Alvarez et al., 1980 ; MacLeod et al., 1997). Ces crises sont le reflet de bouleversements climatiques drastiques, généralement induits par un événement externe (chute d'un corps céleste), interne (supervolcanisme), ou une combinaison des deux. Cependant, les taux actuels d'extinction suggèrent que l'homme, par une pression continue exercée sur les écosystèmes (pollution, surconsommation des ressources, destruction des habitats naturels), pourrait bien être à l'origine du changement global – qui inclut le changement climatique – et d'une sixième extinction de masse (Barnosky et al., 2011 ; Dirzo et al., 2014).

Croissance démographique et son corollaire, l'augmentation de la quantité de déchets générés, concentration des populations dans les villes, intensification de l'agriculture et de l'élevage, sont autant de facteurs qui contribuent à la pollution accrue des ressources en eau par les matières organiques fermentescibles et les agents pathogènes, dès l'Antiquité et le Moyen-Âge. Au cours du XIXe siècle, une prise de conscience s'opère et le lien est établi entre vagues d'épidémies et insalubrité. Ainsi, l'épidémie de choléra de 1854 qui affecte le quartier de Soho à Londres est-elle reliée à la contamination du puits de Broad Street par des matières fécales (Tilley, 2011). Les progrès médicaux ainsi que la mise en place progressive de réseaux de traitement des eaux usées dans les grandes agglomérations à partir de la deuxième moitié du XIXe siècle, puis de stations de traitement des eaux usées (STEP), semblent avoir enrayé durablement ce phénomène. Les XIXe et XXe siècles

voient toutefois l'émergence de nouvelles menaces, au rang desquelles figurent les rejets industriels, contrôlés ou accidentels. Dans le cas des écosystèmes aquatiques, on citera par exemple l'incendie d'un hangar des établissements Sandoz en Suisse en 1986, les tonnes d'eau déversées pour contenir le feu entraînant vers le Rhin près de deux tonnes de mercure et plus d'un millier de tonnes d'insecticides et de pesticides, décimant au passage nombre d'espèces aquatiques, dont l'anguille européenne (Giger, 2009). Autre problème de taille qui ne date pas non plus d'aujourd'hui, la pollution atmosphérique. Ainsi entre la Révolution Industrielle et les années 1950 la ville de Londres est-elle épisodiquement affectée par un brouillard dense et toxique, le smog, qui sévit à son maximum d'intensité en décembre 1952. Le bilan humain très lourd de la catastrophe (4000†) contribue à la sensibilisation des pouvoirs publics avec la création d'un comité d'enquête sur la pollution de l'air en 1953 (Beaver Committee), puis l'adoption par le Parlement du Clean Air Act (« Loi sur l'air propre ») en 1956. Au plan international, les protocoles de Montréal (1987), de Kyoto (1997) ou de Göteborg (1999) fixent respectivement des objectifs de réduction des émissions de substances appauvrissant la couche d'ozone, de gaz à effet de serre, et de composés à l'origine des pluies acides.

En 1962, *Silent Spring* (« Printemps Silencieux ») lance une mise en garde contre l'introduction irraisonnée de substances chimiques toujours plus nombreuses dans l'environnement, dénonçant l'exemple du DDT (dichloro-diphényl-trichloroéthane) et autres pesticides de synthèse dont les effets néfastes ne se limitent pas aux seules espèces nuisibles (ex : insectes ravageurs) mais affectent l'ensemble de la chaîne alimentaire – « Nous pulvérisons les ormes, et aux printemps suivants nul merle ne chante, non qu'ils aient été touchés directement, mais parce que le poison a fait son chemin, pas à pas, de la feuille de l'orme au ver, puis du ver au merle. » Introduisant les notions de persistance, de bioaccumulation et de bioamplification dans un style accessible au grand public, *Silent Spring* contribue à l'essor du mouvement environnementaliste de la deuxième moitié du XXe siècle. L'ouvrage a également une influence sur les politiques menées par les pouvoirs publics au cours des années suivantes : lors d'une audition devant le Congrès, Rachel Carson suggère la création d'une commission d'enquête sur les pesticides, esquissant ce qui deviendra en 1970 l'Agence Américaine de Protection de l'Environnement (US EPA). *Silent Spring*, ainsi que le fort retentissement médiatique du cas de la rivière Cuyahoga aux Etats-Unis, dont on rapporte qu'elle prit feu en 1969 à cause de la pollution par les hydrocarbures, ont ouvert la voie à l'adoption du Clean Water Act (« Loi sur l'eau propre ») par les Etats-Unis en 1972. A partir des années 1970, les études de suivi environnemental se focalisent sur les métaux lourds et les polluants organiques persistants (POPs) tels que les pesticides organochlorés (OCP), les polychlorobiphényles (PCB), et les éthers de biphényles polybromés (PBDE). La mise en évidence de leurs propriétés de persistance, de bioaccumulation et de toxicité entraîne l'arrêt progressif de leur production puis leur interdiction, avec des délais variables selon les pays. Par exemple, si l'usage de la chlordécone est interdit dès 1977 aux Etats-Unis, l'arrêt des épandages aux Antilles Françaises ne sera effectif qu'à partir de 1993. Pour d'autres POPs tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) ou les dioxines et furanes (PCDD et PCDF), le contrôle des émissions est plus difficile à mettre en œuvre puisque ces composés sont essentiellement des sous-produits de combustion (Czuczwa et Hites, 1984 ;

Budzinski, 1993). En 2001, douze substances organochlorées particulièrement nocives (« Dirty Dozen ») sont listées par le programme environnemental des Nations Unies (UNEP) dans le cadre de la Convention de Stockholm sur les POPs.

L'avènement de méthodes analytiques suffisamment sensibles et compatibles avec l'analyse des composés polaires, notamment par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse, permet au cours des vingt dernières années l'identification de nouvelles familles de contaminants dans les matrices environnementales. L'expression contaminants « émergents » souvent employée à leur égard est toutefois sujette à beaucoup de controverses puisque ces substances nouvellement identifiées peuvent être présentes dans le milieu depuis des décennies ; il est donc préférable d'utiliser le terme de « contaminants d'intérêt émergent » pour les désigner. Ces substances sont des xénobiotiques, pouvant exercer une action délétère sur les organismes même à de très faibles concentrations, et sont disséminées dans les écosystèmes aquatiques notamment par les effluents des STEP qui n'ont pas été conçues à l'origine pour assurer leur élimination. Pour preuve, le phénomène de féminisation des organismes dulçaquicoles observé en aval de rejets de STEP, dû à l'action de xénoœstrogènes (Sumpter, 1995). Outre les perturbateurs endocriniens, la famille des polluants organiques d'intérêt émergent inclut les composés pharmaceutiques et de soin personnel, les filtres UV, les drogues illicites, de nouveaux pesticides et leurs métabolites, de nouveaux retardateurs de flamme halogénés, et les composés poly- et perfluoroalkylés (PFAS).

Cette dernière famille est un exemple particulièrement éloquent de la problématique des contaminants d'intérêt émergent. Les PFAS sont des composés d'origine anthropique dont les procédés de fabrication remontent aux années 1950–1960 (électrofluoruration et télomérisation) et qui ont été largement utilisés depuis en raison de leurs excellentes propriétés tensioactives et de leur grande stabilité thermique et chimique. Les PFAS interviennent notamment dans la formulation de mousses extinctrices hautes performances (ex : lutte contre les feux d'hydrocarbures), dans le traitement final des tissus et des emballages alimentaires, dans l'industrie photographique et électronique, et comme auxiliaires lors de la production de fluoropolymères (Krafft et Riess, 2015). En raison de la forte augmentation de la production industrielle de PFAS entre les années 1970 et 2000 et des propriétés de persistance de ces derniers, il était vraisemblable que les PFAS finissent par s'accumuler dans l'environnement. Bien que pressentis par Taves (1968) dans le sérum humain, il faudra attendre le début des années 1980 pour voir l'apparition des premières méthodes d'analyse spécifique du perfluorooctanoate (PFOA) dans le sang ou le foie (Belisle et Hagen, 1980) et le début des années 2000 pour rendre possible l'analyse ultra-trace des PFAS dans les matrices environnementales (ex : Hansen et al., 2001). Dans le sillage des premières études mettant en évidence la présence de perfluoroalkyle carboxylates dans les eaux souterraines (Moody et Field, 1999) et la distribution globale du perfluorooctane sulfonate (PFOS) chez les êtres vivants (Giesy et Kannan, 2001) y compris chez l'homme (Olsen et al., 2003), une littérature florissante se développe, totalisant après une décennie près de 2500 publications dans des revues à comités de lecture (Kannan, 2011). Contrairement aux POPs « historiques » (ex : DDT, chlordécone...) qui sont

lipophiles et s'accumulent dans les tissus adipeux, les PFAS sont à la fois lipophobes et hydrophobes, et s'accumulent préférentiellement dans le sang ou les organes (Jones et al., 2003). Au chapitre des effets toxiques pouvant être occasionnés par les PFAS, figurent l'hépatotoxicité et l'immunotoxicité, ainsi que des altérations du développement (Lau et al., 2012). Les voies d'exposition des organismes aquatiques sont multiples puisque ces composés, amphiphiles, peuvent aussi bien être transportés en phase dissoute ou s'adsorber aux sédiments, leur affinité pour l'un ou l'autre des compartiments dépendant de la longueur de la chaîne perfluoroalkylée (Ahrens, 2011). De même, il a été montré que la propension des PFAS à la bioaccumulation ou à la bioamplification était corrélée d'une part à la longueur de la chaîne perfluoroalkylée, et d'autre part à la nature du groupe polaire terminal (Kelly et al., 2009 ; Labadie et Chevreuil, 2011a).

Dans ce contexte, l'objectif général de ces travaux était de contribuer à une meilleure compréhension du devenir environnemental des PFAS dans les écosystèmes aquatiques. Un état de l'art succinct des connaissances actuelles sur les PFAS, incluant notamment les stratégies analytiques mises en œuvre pour leur détermination dans les environnements aquatiques, ainsi que leur occurrence, sources, et impacts, est établi dans le premier chapitre. Le **Chapitre II** quant à lui présente la méthodologie générale mise en œuvre dans le cadre de ces travaux. On y trouvera des indications sur les sites d'étude, le prélèvement et la conservation des échantillons, les techniques d'extraction et de purification employées, les méthodes instrumentales d'analyse, le contrôle qualité, ou le traitement des données. Etant donné l'effort d'échantillonnage considérable inhérent à chaque projet, des méthodes analytiques aussi rapides, sensibles et économiques que possible ont été développées, optimisées et validées, et sont présentées au sein du **Chapitre III**. Le **Chapitre IV** explore les facteurs gouvernant la dynamique biogéochimique des PFAS, s'articulant principalement autour de la Campagne Prospective 2012 de l'ONEMA sur les contaminants émergents en France métropolitaine et dans les Départements d'Outre-Mer, à laquelle s'ajoute une étude menée en milieu estuarien le long d'un gradient de salinité/turbidité. Le **Chapitre V**, dans la continuité du précédent, ajoute l'aspect du transfert des PFAS du milieu aux organismes, et étudie leur bioaccumulation et/ou leur bioamplification, en milieu fluvial ou estuarien. Les résultats présentés au sein du **Chapitre VI** ouvrent des perspectives sur l'occurrence de PFAS d'intérêt émergent en France métropolitaine et leur dynamique spatio-temporelle dans le bassin versant de la rivière Chaudière (Québec, Canada) suite à un épisode de contamination ponctuelle aux nouvelles formulations de mousses anti-incendie lors de l'accident ferroviaire de Lac-Mégantic. Enfin, le **Chapitre VII** présente une synthèse étendue des travaux de recherche entrepris dans le cadre de ce doctorat.

OBJECTIFS DE LA THESE

Antérieurement au démarrage de ces travaux de thèse, des méthodes d'analyse ultra-trace des PFAS dans les matrices eau, sédiment et biote avaient été développées et validées à l'UMR 7619 Sisyphe (Labadie et Chevreuil, 2011a,b) et à EPOC (Bertin et al., 2014). Les procédures analytiques présentées dans le cadre de ce travail de doctorat complètent ces méthodes initiales, avec pour objectif principal d'en **augmenter la productivité et la rapidité, sans en altérer les performances** (ex : rendement, effet matriciel, limites de détection...). L'extraction assistée par micro-ondes (chapitre III.1) n'avait pas encore été appliquée à l'analyse des PFAS dans les tissus de poissons ; cette méthode a été choisie en raison de sa rapidité/productivité par rapport à des méthodes séquentielles comme l'extraction accélérée par solvant (ASE). La méthode décrite par Labadie et Chevreuil (2011a) pour l'extraction des PFAS des matrices plasmatiques par extraction sur phase solide (SPE) hors ligne et analyse par LC/ESI-MS/MS a montré des fréquences de quantification élevées (~ 100 %) pour une large gamme de PFCA et de PFSA chez le cheveine (*S. cephalus*) en milieu fluvial urbain. Dans la continuité de ces travaux et afin de **réduire les étapes de préparation de l'échantillon**, nous avons souhaité développer une méthode d'analyse des PFAS dans le plasma par **SPE en ligne** couplée à la LC/ESI-MS/MS (chapitre III.2). Si des techniques similaires ont été rapportées dans la littérature (ex : Llorca et al., 2012), l'objectif revendiqué de la présente méthode était **d'opérer avec une faible prise d'essai (< 100 µL)**, ce qui rendrait son application *a priori* transposable à des modèles biologiques de faible taille utilisés en écotoxicologie (ex : *Danio rerio*, *Oryzias latipes*). Ceci pourrait être rendu possible par l'injection d'une large fraction de l'extrait final – ce qui présenterait comme avantage supplémentaire de **diminuer la consommation d'étalons isotopiquement marqués** (objectif de réduction d'un facteur ~ 10³ par rapport à la méthode de SPE hors ligne précédemment évoquée). Enfin, dans le cadre du premier séjour à l'Université de Montréal (UdeM), nous souhaitions déterminer si la technique de désorption thermique par diode laser (LDTD) couplée avec une source d'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) et à la spectrométrie de masse était compatible avec l'analyse quantitative des PFAS dans les échantillons aqueux (chapitre III.3). Cette technique instrumentale relativement récente (Picard, 2008) permet une **réduction drastique du temps d'analyse** (~ 20 secondes entre deux échantillons successifs) et, bien qu'il en existe des applications à d'autres familles de micropolluants (ex : Boisvert et al., 2012), elle n'avait fait l'objet d'aucune publication concernant les PFAS.

Les méthodes optimisées et validées ont par la suite été appliquées à diverses séries d'échantillons environnementaux, l'objectif premier de ce doctorat étant de **poursuivre les efforts entrepris pour renseigner l'occurrence et le devenir des PFAS dans les milieux aquatiques continentaux et estuariens**. Dans la continuité de la campagne prospective de 2011 dans les eaux souterraines en France métropolitaine (Lopez et al., 2015), la campagne prospective de 2012 de l'ONEMA ciblait 182 micropolluants dans les eaux de surface en France métropolitaine et dans les Départements d'Outre-Mer (158 sites, trois campagnes d'échantillonnage), et les eaux souterraines dans les DOM uniquement (40 sites, deux campagnes d'échantillonnage). Cette phase préliminaire était essentielle afin de **mettre à jour les listes de micropolluants à rechercher par les autorités compétentes en gestion de l'environnement** dans le cadre des plans quinquennaux de surveillance de routine des Agences de l'Eau (Botta et Dulio, 2014). A terme, les données générées devraient renforcer les connaissances de l'état chimique des masses d'eau et, pour les composés pour lesquels il existe des normes, d'en évaluer la conformité dans le contexte réglementaire de l'Union Européenne (Directive Cadre sur l'Eau). Dans ce contexte, les chapitres IV.1 et IV.2 du présent manuscrit **évaluent la distribution spatiale** d'une vingtaine de PFAS dans les matrices eau et sédiment en France métropolitaine et dans les DOM (**pour la première fois à l'échelle nationale**), en lien avec la **typologie des sites** (ex : sources industrielles, milieu urbain, stations de « référence »...). Une **étude préliminaire des facteurs de contrôle des niveaux de PFAS dans le sédiment** a également été incluse au chapitre IV.1, incluant des paramètres spécifiques au sédiment tels que la granulométrie ou la teneur en carbone organique. Dans la même optique, la campagne HALOGIR (chapitre IV.3) proposait, à travers une étude de cas réalisée sur la Gironde, **d'établir une**

cartographie de la contamination sédimentaire des zones subtidales et intertidales d'un estuaire macrotidal par les PFAS (18 sites intra-estuaire et 3 au large de l'embouchure) et **d'approfondir l'étude de leur distribution dans la colonne d'eau** (phase dissoute – phase particulaire) le long d'un gradient de salinité/turbidité. *In fine*, HALOGIR devrait permettre une meilleure compréhension du devenir environnemental des PFAS à l'interface entre les eaux de surface continentales et le milieu marin qui en constitue le réceptacle ultime.

La dynamique spatio-temporelle des PFAS dans la colonne d'eau et leur transfert aux premiers maillons du compartiment biotique ont fait l'objet de deux chapitres spécifiques, adossés au programme PIREN-Seine et au projet PFC-Gironde, respectivement. Documenter les phénomènes de bioaccumulation et de bioamplification des micropolluants à la base des réseaux trophiques apparaît capital avant d'évaluer leur transfert vers d'autres organismes de niveau trophique supérieur (Foster et al., 2012). Le chapitre **V.1** visait à **caractériser les variations saisonnières des PFAS dans la colonne d'eau** et leur **bioaccumulation** chez un modèle biologique **à la base du réseau trophique fluvial, le biofilm périphytique**. Cette étude a été conduite dans la Seine afin d'évaluer **l'influence de l'agglomération parisienne** sur les niveaux et profils de PFAS et d'estimer le flux annuel de PFAS, en lien avec des travaux antérieurs (Labadie et Chevreuil, 2011b). Dans la continuité du chapitre **V.1**, le suivi mensuel à Pauillac (Gironde) conduit entre octobre 2012 et octobre 2013 (chapitre **V.2**) avait pour objectif de **documenter la variabilité temporelle** des niveaux et profils de **PFAS à la base du réseau trophique estuarien** (copépodes, mysidacés, crevettes). Cette étude se situe également dans le prolongement de celle conduite par Tapie (2006) pour d'autres micropolluants organohalogénés (PCB et PBDE) au niveau du site de Pauillac. A notre connaissance, l'occurrence des PFAS dans les organismes à la base des réseaux trophiques n'a pour l'instant fait l'objet que d'un nombre limité de publications. De plus, caractériser la variabilité des concentrations à la base du réseau trophique apparaît comme un des points essentiels à prendre en compte pour l'estimation des facteurs de bioamplification, abordés plus en détail dans le deuxième axe du projet PFC-Gironde (chapitre **V.3**). A ce jour, la **bioamplification des PFAS** a été essentiellement documentée en milieu lacustre ou marin ; PFC-Gironde propose donc de combler le manque de données **pour les réseaux trophiques à l'interface terre-mer**, à travers l'étude de cas du réseau trophique de l'estuaire de la Gironde. Outre l'acquisition des données de contamination et des rapports des isotopes stables de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$) sur une large gamme d'échantillons biologiques (18 taxons, $n = 147$ échantillons), la **prise en compte des biais expérimentaux et statistiques** pouvant survenir lors du calcul des facteurs d'amplification trophique (TMF) constituait également un point original du projet PFC-Gironde. Par exemple, **l'intégration des valeurs « censurées à gauche » (inférieures aux limites de détection) dans le calcul des TMF** a été réalisée par des techniques alternatives aux approches classiques de substitution, rendant ainsi la détermination des TMF plus robuste (chapitre **V.3**).

Enfin, le chapitre **VI** avait pour ambition **d'explorer l'occurrence de PFAS d'intérêt émergent** dans les matrices sédiment et biote à l'aide de la spectrométrie de masse haute résolution. Etant donné le manque actuel de données *in situ* sur les PFAS zwitterioniques et cationiques, **le spectre des composés recherchés a été élargi** aux familles de PFAS récemment identifiées dans les **mousses extinctrices de type AFFF** (Place et Field, 2012 ; D'Agostino et Mabury, 2014). Le chapitre **VI.1** présente un développement méthodologique pour l'analyse de ces composés et prolonge l'étude exploratoire présentée au chapitre **IV.1** sur une sélection de 12 échantillons de sédiment de France métropolitaine, en privilégiant les sites potentiellement impactés par les activités anti-incendie (ex : cours d'eau à proximité des aéroports). Le deuxième axe du chapitre **VI** visait à étudier la **dynamique spatio-temporelle** de PFAS d'intérêt émergent **anioniques, zwitterioniques et cationiques** dans le bassin versant de la rivière Chaudière (Québec), suite à l'utilisation massive de mousses extinctrices AFFF lors de l'accident ferroviaire survenu le 6 juillet 2013 dans la ville de Lac-Mégantic (chapitre **VI.2**). Il convient de souligner la portée de ces travaux : en effet, l'occurrence *in situ* des PFAS d'intérêt émergent de type zwitterionique ou cationique n'avait fait l'objet que d'un nombre restreint de publications au moment du démarrage de ces travaux de doctorat (Moe et al., 2012).

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Ce chapitre propose un état de l'art des connaissances actuelles sur les composés poly- et perfluoroalkylés (PFAS). Après avoir rappelé quelques éléments de contexte historique sur la chimie du fluor, cette synthèse présente un aperçu de la diversité des PFAS et établit une analyse rétrospective sur leur émergence comme polluants environnementaux. Le statut de polluants organiques persistants (POPs) de certains des composés appartenant à la famille des PFAS est à mettre en relation avec leurs propriétés physico-chimiques, leur toxicité, et leur présence avérée dans l'ensemble de la biosphère. Cette étude bibliographique s'attache également à décrire les méthodes analytiques traditionnellement employées pour la détermination des PFAS dans les matrices environnementales.

I.1. ELEMENTS DE CONTEXTE

Alors que certains éléments tels que l'or ($_{79}\text{Au}$), le cuivre ($_{29}\text{Cu}$) ou le soufre ($_{16}\text{S}$) peuvent être présents à l'état natif dans l'écorce terrestre, d'autres éléments, bien qu'abondants, ne sont retrouvés qu'à l'état combiné dans la nature. Du fait de sa grande réactivité, le fluor ($_{9}\text{F}$) appartient à cette dernière catégorie. Il est naturellement présent sous forme gazeuse associé au silicium (SiF_4) dans les fumerolles des volcans, ainsi que sous forme minérale dont les principales associations sont la cryolite (Na_3AlF_6) et la fluorite (CaF_2) (Portier, 1968). Bien que le fluor soit l'un des éléments les plus abondants de la croûte terrestre (13^{e}), on ne le retrouve que rarement incorporé à la structure de molécules organiques d'origine naturelle (Gribble, 2003 ; Dolbier Jr., 2005). On citera à titre d'exemple la fluoro-acétone, composé volatil mono-fluoro-substitué produit par *Acacia georginae* (Peters et Shorthouse, 1971).

I.1.a. Essor de la chimie du fluor

Dans une allocution prononcée devant l'assemblée du VII^e Symposium international sur la chimie du fluor (Santa Cruz, Californie, 1973), Joseph H. Simons évoque rétrospectivement « Sept Âges » de la chimie du fluor. Ce discours est disponible dans son intégralité dans le 32^e volume du *Journal of Fluorine Chemistry* (Simons, 1986), dont nous proposons ci-après un résumé commenté (Cf. **Figure 1.1**).

Le premier de ces âges remonte à l'Antiquité, où la fluorite était utilisée en métallurgie pour promouvoir la fluidification des minerais métalliques. On doit d'ailleurs à cette utilisation première le nom de l'élément, qui en latin signifie écoulement (*fluor*, *fluoris*). Le second trouve son origine au XVIII^e siècle avec la réaction de la fluorite et de l'acide sulfurique décrite par Marggraf (1768), puis la distillation de l'acide fluorhydrique (HF) par Gay-Lussac et Thénard (1800), et se prolonge au XIX^e avec les tentatives – infructueuses – d'isoler l'élément initialement pressenti par Ampère et Davy. C'est Henri Moissan qui parviendra finalement à isoler le fluor élémentaire (difluor gazeux, F_2) par électrolyse de l'acide fluorhydrique (1886). Pour une description détaillée de cet événement, on se référera par exemple à l'excellent récit de Gaston Tissandier (1886). Le troisième de ces âges est dominé par les recherches de Moissan en France, de Swarts en Belgique, et de Ruff en Allemagne. Etape fondatrice pour la chimie de synthèse des composés organofluorés, Frédéric Swarts utilise en 1892 le trifluorure d'antimoine (SbF_3) afin de convertir un dérivé aliphatique chloré en chlorofluorocarbure (Dolbier Jr., 2005).

Au début des années 1920, le premier acide perfluoroaliphatique est synthétisé par Swarts – il s'agit de l'acide trifluoroacétique, CF_3COOH –, et le premier perfluorocarbure (CF_4) est isolé. C'est le commencement du « quatrième âge » de la chimie du fluor. Dans la lignée des travaux de Swarts, les propriétés réfrigérantes des chlorofluorocarbures (CFC) (Fréons[®]) sont révélées par Thomas Midgley en 1928. Ces composés seraient bientôt amenés à remplacer les réfrigérants de première génération tels que l'ammoniac, le dioxyde de soufre ou le chlorure de méthyle, jugés trop dangereux en raison de leur toxicité et/ou de leur inflammabilité (Banks et Tatlow, 1986 ; Calm, 2008). En 1938, alors qu'il

travaillait sur des Fréons[®], Roy J. Plunkett découvre fortuitement le polytétrafluoroéthylène (PTFE : $(\text{CF}_2\text{CF}_2)_n$) au laboratoire Chemours de Jackson (New-Jersey). Le cinquième âge de la chimie du fluor coïncide avec la seconde guerre mondiale, qui entraîne un intérêt renouvelé pour la chimie inorganique du fluor, avec la production du trifluorure de chlore (ClF_3) comme agent incendiaire, ou de l'hexafluorure d'uranium (UF_6) dans le cadre des recherches sur la bombe atomique (Projet Manhattan). Rappelons toutefois que le PTFE aura, lui aussi, démontré son utilité dans le cadre du Projet Manhattan ; l'excellente inertie chimique de ce polymère le rend en effet apte à supporter des composés chimiques corrosifs tels que ceux utilisés pour l'enrichissement isotopique de l'uranium-235.

<p>Antiquité. Utilisation de la fluorite (CaF_2) en métallurgie.</p> <p>XVI^e siècle. Mention des termes « Flußspat » et « fluorine » dans la littérature.</p> <p>1810–1813. André Marie Ampère et Humphrey Davy conjecturent l'existence d'un nouvel élément, le fluor.</p> <p>1886. Henri Moissan réussit à isoler le fluor (F_2) (électrolyse de l'acide fluorhydrique).</p> <p>1892. Synthèse de chlorofluorocarbures par Frédéric Swarts à partir de composés aliphatiques, de Cl_2 et de SbF_3.</p> <p>1920. Synthèse de l'acide trifluoroacétique (CF_3COOH) par Frédéric Swarts.</p> <p>1928. Découverte des propriétés de réfrigération des chlorofluorocarbures (CFC) (Freons[®]) par Thomas Midgley (Frigidaire Corporation).</p> <p>1938. Découverte du polytétrafluoroéthylène (PTFE) (Téflon[®]) par Roy J. Plunkett.</p> <p>1949. Procédé d'électro-fluoration breveté par 3M (Joseph H. Simons).</p> <p>1954. Travaux pionniers de Fried et Sabo sur l'incorporation du fluor aux molécules biologiquement actives afin d'en améliorer l'efficacité (fludrocortisone).</p> <p>1974. Les chlorofluorocarbures (CFC) sont incriminés dans le phénomène de destruction de la couche d'ozone (travaux de Molina et Rowland).</p> <p>1987. Protocole de Montréal engageant la réduction progressive de l'utilisation et de la production des CFC.</p>

Figure 1.1. Evénements fondateurs de l'histoire de la chimie du fluor, adapté de Simons (1986) et de Dolbier Jr. (2005).

Ce n'est pourtant qu'à l'issue de la guerre que la chimie organique du fluor prendra véritablement son essor, que Simons identifie comme « sixième âge ». Les CFC (Fréons[®]) sont produits en masse (appareils frigorifiques, climatiseurs, aérosols) et le PTFE, commercialisé sous le nom de Téflon[®], trouve des applications dans les secteurs de l'électronique et de l'automobile. Le Téflon[®] rencontrera un succès grandissant à partir des années 1960, ses propriétés antiadhésives en faisant un matériau de choix pour le revêtement des ustensiles de cuisine. Le brevet de la première poêle « qui n'accroche pas » est déposé en France en 1954 sous le nom de « Tefal » (contraction de téflon + aluminium). C'est également à cette époque que le procédé d'électro-fluoration est breveté par la compagnie 3M (Simons, 1949). Ce procédé sera déterminant pour la synthèse des surfactants perfluoroalkylés, nous y reviendrons par la suite (Cf. § 1.1.b). Les années 1950 voient aussi l'éclosion

de l'intérêt du fluor pour des applications biomédicales. Dans le domaine de l'anesthésie, l'éther diéthylique est progressivement abandonné au profit de composés organofluorés non-toxiques et non-inflammables, tel que le fluoroxène ($\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OCH}=\text{CH}_2$) (1953). En 1954, Fried et Sabo montrent que l'introduction d'un atome de fluor en position 9- α de l'hydrocortisone (**Figure 1.2**) en augmente d'un ordre de grandeur l'indice thérapeutique (O'Hagan, 2010). Ces travaux pionniers ont ouvert la voie aux composés pharmaceutiques organofluorés (**Figure 1.2**).

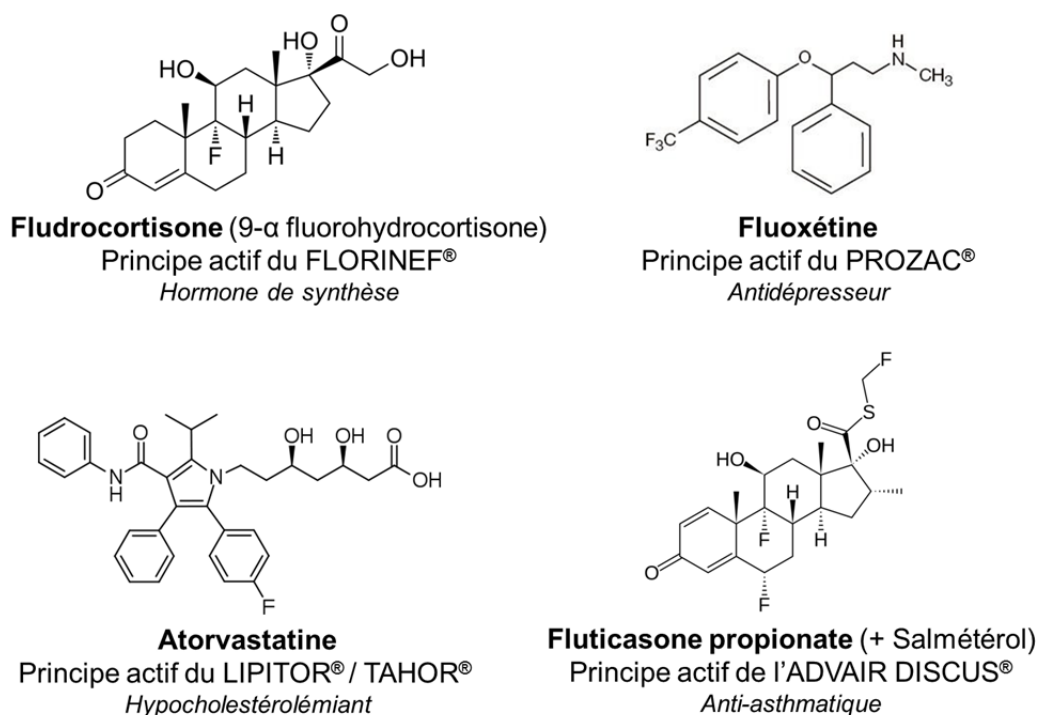


Figure 1.2. Structure de quelques molécules organofluorées synthétiques à visée thérapeutique.

Enfin, Simons de conclure qu'en 1973, la chimie du fluor est probablement entrée dans sa septième période qui en constituera l'âge d'or (« seventh heaven »). Le domaine de la chimie du fluor, fort des connaissances acquises au cours des six âges précédents, pourrait alors connaître une expansion fulgurante. Si l'on examine le cas du domaine biomédical, l'auteur n'aurait pas pu être plus perspicace. On estime actuellement à environ 20 % le nombre de médicaments prescrits ou administrés contenant au moins un atome de fluor ; lorsque l'on considère les 30 médicaments les plus vendus, cette proportion atteint 30 % (O'Hagan, 2010). Le LIPITOR®, dont le principe actif est l'atorvastatine (**Figure 1.2**), se classe souvent en tête des ventes par rapport aux autres substances pharmaceutiques, représentant en 2008 un volume de presque six milliards de dollars pour le seul marché des Etats-Unis d'Amérique (USA) (O'Hagan, 2010). Le fluor est également incorporé à la structure de la fluoxétine, principe actif du PROZAC® (**Figure 1.2**). En revanche, le « septième ciel » des chlorofluorocarbures (CFC) commence à s'assombrir dès le milieu des années 1970, lorsque Molina et Rowland (1974) suggèrent l'implication des CFC dans le mécanisme d'appauvrissement de l'ozone stratosphérique (réaction de l' O_3 avec le radical chloré Cl^\cdot issu de la décomposition photochimique des CFC). Le retentissement de ces travaux est tel que des mesures réglementaires

sont bientôt mises en place afin de bannir progressivement leur production et leur utilisation. Si, en 1988, la production mondiale annuelle de CFC atteint encore un million de tonnes, elle fléchira bientôt sous l'impulsion du Protocole de Montréal (1987) pour passer sous la barre des 50 000 tonnes une dizaine d'années plus tard (Dolbier Jr., 2005). En parallèle, l'industrie chimique développe des réfrigérants dits de « troisième génération » tels que les hydrochlorofluorocarbures (HCFC) et les hydrofluorocarbures (HFC), et poursuit sa quête de composés à la fois inoffensifs pour la couche d'ozone et présentant un faible potentiel de réchauffement planétaire (Calm, 2008).

1.1.b. Diversité des PFAS – Synthèse, nomenclature, applications

Ainsi qu'il a été précédemment mentionné, les composés organofluorés d'origine naturelle sont rares. L'extrême réactivité du fluor explique également en grande partie la difficulté qu'ont eue les chimistes à isoler cet élément et à l'utiliser. Toutefois, l'essor de la chimie du fluor au cours du XX^e siècle a rendu possible l'obtention de dérivés organofluorés synthétiques aux propriétés étonnantes, et qui ont rencontré de larges succès dans le domaine industriel et biomédical (Cf. § 1.1.a). Les tensioactifs poly- et perfluoroalkylés (PFAS) font partie de ces « créations anthropiques » (Krafft et Riess, 2015). L'association de deux entités « incompatibles » au sein d'une même molécule, une chaîne fluorocarbonée à la fois hydrophobe et lipophobe d'une part, et un groupement hydrophile d'autre part, confère aux PFAS d'excellentes propriétés tensioactives (Krafft et Riess, 2015) (Cf. § 1.2.c).

Si le premier acide perfluoroalkylé (CF_3COOH) est synthétisé en 1920, ce n'est qu'au cours des années 1940 qu'apparaît le procédé d'électro-fluoruration de la compagnie 3M qui permettra d'établir la première voie de synthèse des PFAS à l'échelle industrielle (Simons, 1949). Une voie de synthèse alternative, la télomérisation, sera développée par DuPont dans les années 1960 (Brace, 1961 ; Blanchard et Rhode, 1965). Alors que le procédé d'électro-fluoruration est principalement la marque de fabrique de la compagnie 3M, le procédé de télomérisation est actuellement appliqué par des producteurs industriels de PFAS tels que DuPont, Daikin, Asahi, AtoFina ou Clariant (Stock et al., 2010).

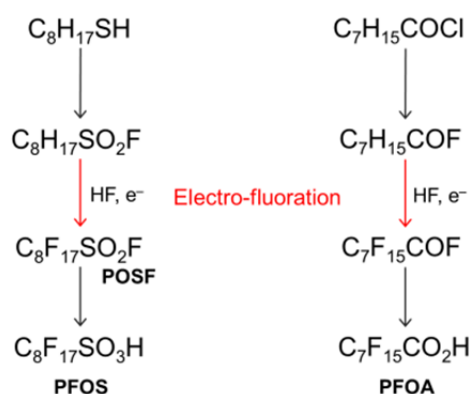


Figure 1.3. Synthèse du PFOS et du PFOA par électro-fluoruration (Buck et al., 2011).

L'électro-fluoruration repose sur l'électrolyse d'un composé aliphatique par l'acide fluorhydrique anhydre (HF) afin de produire une chaîne perfluoroalkyle, l'ensemble des atomes d'hydrogène de la chaîne carbonée étant substitués par des atomes de fluor. Un exemple de la voie de synthèse de l'acide perfluorooctane sulfonique ($\text{C}_8\text{F}_{17}\text{SO}_3\text{H}$, PFOS) et de l'acide perfluorooctanoïque ($\text{C}_7\text{F}_{15}\text{CO}_2\text{H}$, PFOA) à partir de ce procédé est présenté en **Figure 1.3**. L'électro-fluoruration a été abondamment utilisée pour la production de perfluorooctane sulfonyle fluoride (POSF) ($\text{C}_8\text{F}_{17}\text{SO}_2\text{F}$) (Cf. également § 1.2). Le POSF

est un produit de départ pour la synthèse de sels de PFOS (hydrolyse basique du POSF) (Lehmlier, 2005), ainsi que pour la synthèse des dérivés N-alkylés du perfluorooctane sulfonamide (obtention de MeFOSA et EtFOSA par réaction du POSF avec la méthyle amine ou l'éthyle amine, respectivement) qui peuvent à leur tour être utilisés pour former les dérivés N-alkylés du perfluorooctane sulfonamido éthanol (FOSE) tels que le MeFOSE ou l'EtFOSE (réaction de MeFOSA ou d'EtFOSA avec le carbonate d'éthylène) (3M, 1999). Le POSF peut également être utilisé pour synthétiser des dérivés cationiques ou amphotériques, comme illustré sur la **Figure 1.4** ci-après (Kissa, 2001).

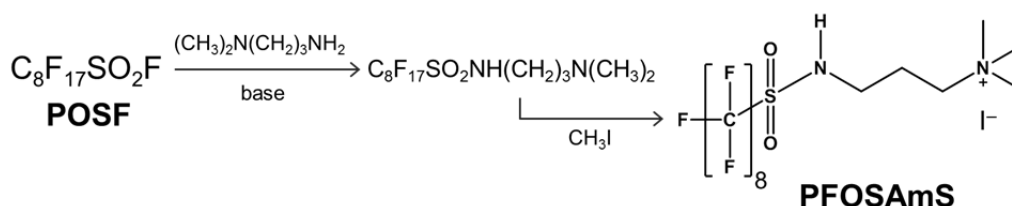


Figure 1.4. Exemple de synthèse d'un PFAS cationique, le perfluorooctane sulfonamido alkyle ammonium (PFOSAmS), à partir du perfluorooctane sulfonyle fluoride (POSF) (Kissa, 2001).

Toutefois, la synthèse de POSF par électro-fluoruration de l'octane sulfonyle fluoride ($\text{C}_8\text{H}_{17}\text{SO}_2\text{F}$) entraîne, outre le produit principal (POSF linéaire : $\text{F}_3\text{C}-(\text{CF}_2)_7-\text{SO}_3\text{F}$), la formation de co-produits de réaction, ainsi que des sous-produits issus de réactions secondaires (3M, 1999 ; Benskin et al., 2010). On citera notamment des dérivés perfluoroalkyle sulfonyle fluoride de différentes longueurs de chaîne, tels que le perfluorohexane sulfonyle fluoride (PHxSF), ou encore des isomères ramifiés du POSF (3M, 1999). Ainsi, les composés organofluorés produits à partir de POSF contiennent généralement un mélange complexe d'isomères, dont les dérivés issus du POSF linéaire ne représentent qu'environ 70 % (Lehmlier, 2005).

Bien que des différences entre lots puissent survenir, il a été estimé que l'isomère linéaire de l'acide perfluorooctane sulfonique (L-PFOS ou n-PFOS) ne représentait qu'environ 70 % des isomères du PFOS dans un lot de PFOS produit par 3M (lot 217), contre près de 30 % pour le total des isomères ramifiés (Br-PFOS), constitué majoritairement des dérivés monométhyles et isopropyle (~17 % et ~10 % du total des isomères du PFOS, respectivement) (Benskin et al., 2010). Ainsi que l'indiquent Buck et al. (2011), il existe en théorie 89 isomères possibles du PFOS ; cependant, seule une dizaine d'isomères ramifiés a été observée de façon récurrente dans l'environnement (Riddell et al., 2009), dont nous détaillons les structures en **Figure 1.5**. Ces profils d'isomères peuvent se refléter à la fois dans les standards de PFAS commerciaux et dans des produits contenant des PFAS dans leur formulation, tel qu'illustré en **Figure 1.6**, ainsi que dans les profils moléculaires observés dans l'environnement (Cf. § 1.2). Outre les isomères ramifiés du PFOS, le standard de PFOS précédemment évoqué (lot 217) contenait comme impuretés majoritaires des acides perfluoroalkyle sulfoniques linéaires à chaînes courtes (C_4-C_7), notamment l'acide perfluorohexane sulfonique (C_6 : PFHxS) (~ 5 % en masse), ainsi que du PFOA (~ 0.8 % en masse) et d'autres acides perfluoroalkyle carboxyliques, présents à l'état de traces (≤ 0.002 %) (Benskin et al., 2010).

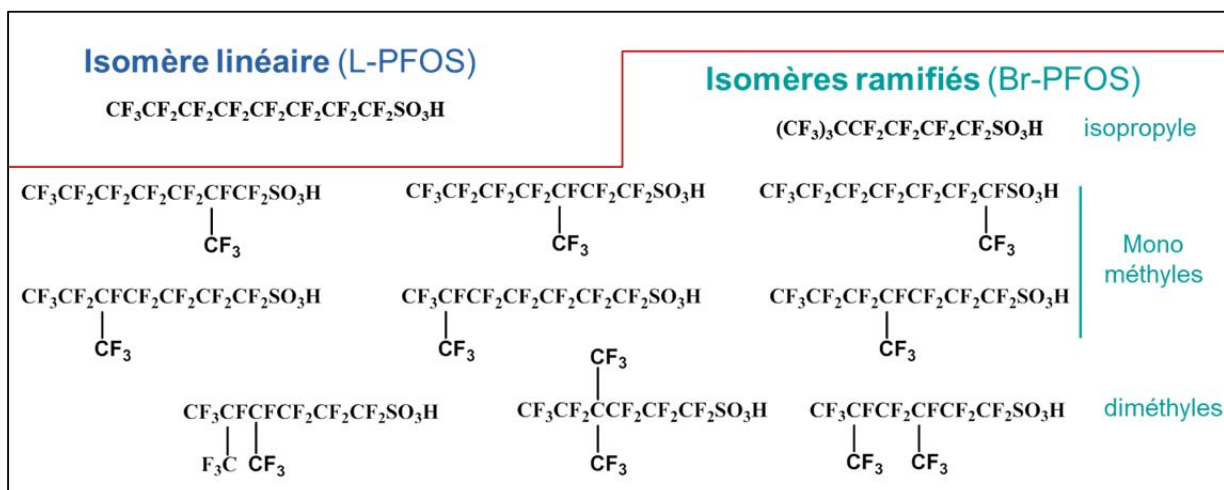


Figure 1.5. Isomères du PFOS observés de manière récurrente dans l'environnement (d'après Riddell et al., 2009).

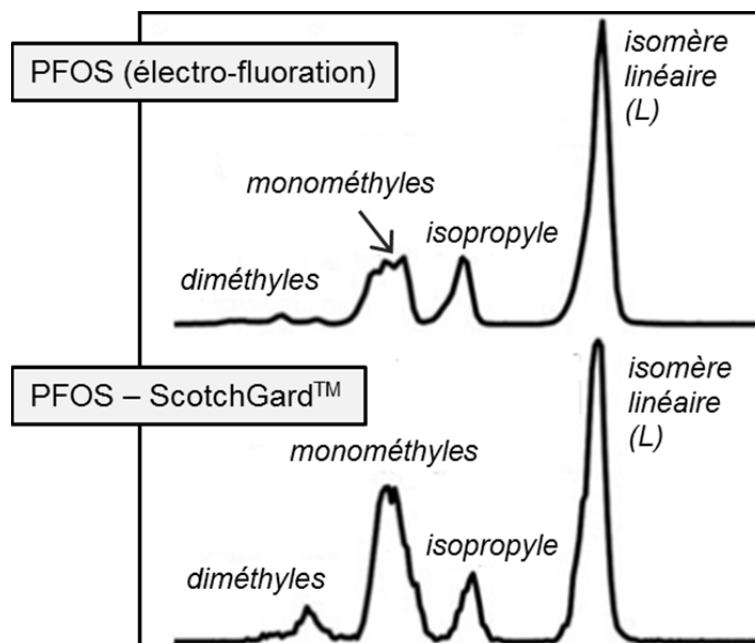


Figure 1.6. Profils des isomères du perfluorooctane sulfonate (PFOS) par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC/ESI-MS/MS) (m/z 499 \rightarrow 80), pour une formulation de PFOS issu de la méthode d'électro-fluoration de 3M (haut), et pour une formulation de ScotchGard™ (datant d'avant 2002), produit commercialisé par 3M pour le traitement de surface de textiles (moquettes, tapis) (bas). Adapté de Benskin et al. (2010).

De même, la synthèse du PFOA par électro-fluoruration du fluorure d'octanoyle ($C_7H_{15}COF$) et hydrolyse consécutive ne conduit pas uniquement à l'isomère linéaire du PFOA (L-PFOA ou n-PFOA), mais produit un mélange d'isomères, le L-PFOA représentant environ 78–80 % du PFOA, contre ~ 20–22 % pour le total des isomères ramifiés (Br-PFOA) (De Silva et Mabury, 2006 ; Olsen et al., 2007). A noter que d'autres voies de synthèse, moins répandues, peuvent également conduire à des acides perfluoroalkyle carboxyliques ramifiés, tel que le procédé de fluoruration directe en phase liquide (LPDF), ce qui pourrait expliquer les quantités mineures de Br-PFOA dans certains mélanges commerciaux de PFOA, ainsi que l'ont noté Benskin et al. (2010).

Outre l'électro-fluoruration, l'autre voie de synthèse majeure des PFAS est le procédé de télomérisation qui implique un mécanisme radicalaire (Kissa, 2001) (**Figure 1.7**). La réaction débute sous l'action d'un amorceur photochimique, générant un radical perfluoroalkylé ($CF_3CF_2\cdot$) à partir de l'iodure de perfluoroéthyle (CF_3CF_2I), appelé « télogène », qui pourra consécutivement réagir avec un « taxogène » tel que le perfluoroéthylène ($F_2C=CF_2$). A noter que le télogène de départ (CF_3CF_2I) peut être préparé par réaction du pentafluorure d'iode (IF_5) et de diiode (I_2) avec le perfluoroéthylène ($F_2C=CF_2$) en présence du réactif de Swart (trifluorure d'antimoine, SbF_3) (Kissa, 2001). Au cours de la propagation, la chaîne perfluoroalkyle résultante s'accroît d'une unité $-CF_2CF_2$ à chaque itération (**Figure 1.7**). A l'issue des étapes de transfert et terminaison, le mélange final contient un mélange d'iodures perfluoroalkylés linéaires $CF_3CF_2(CF_2CF_2)_xI$ dont la longueur de chaîne perfluoroalkyle diffère d'une unité $-CF_2CF_2$ (Kissa, 2001 ; D'Eon, 2010). L'ajustement des rapports molaires des réactifs ajoutés initialement permet de contrôler le degré n de la réaction radicalaire afin d'obtenir majoritairement le produit désiré $CF_3CF_2(CF_2CF_2)_nI$ (Krafft et Riess, 2015).

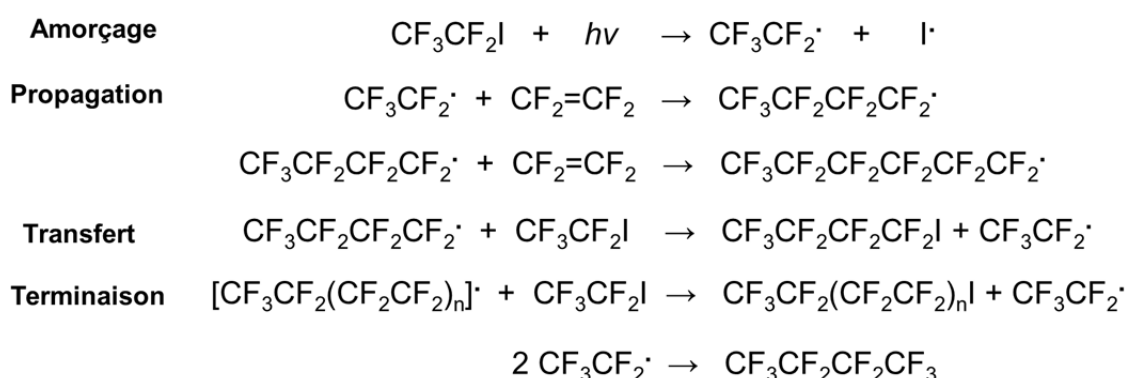


Figure 1.7. Mécanisme radicalaire du procédé de télomérisation à partir d'iodure de perfluoroéthyle (CF_3CF_2I) et de perfluoroéthylène ($F_2C=CF_2$).

L'intermédiaire majoritairement obtenu par la réaction précédente est typiquement un iodure perfluorooctyle $CF_3CF_2(CF_2CF_2)_3I$ qui peut être soumis à une réaction d'oxydation en présence d'oléum (acide sulfurique fumant) ou à une réaction de carboxylation, afin d'opérer sa conversion en

acide perfluorooctanoïque (PFOA) ou en acide perfluorononanoïque (PFNA), respectivement (Benskin et al., 2010).

A l'inverse du procédé d'électro-fluoration qui produit des mélanges de composés linéaires et ramifiés (généralement en proportion 70:30), le procédé de télomérisation tel que décrit précédemment conduit à des mélanges d'iodures perfluoroalkylés linéaires exclusivement, avec un nombre pair d'atomes de carbone perfluoroalkylés.

Toutefois, il est également possible de produire des mélanges d'iodures perfluoroalkylés linéaires à chaînes impaires en prenant comme télogène de départ l'iodure de perfluorométhyle (CF_3I) ou l'iodure de perfluoropropyle ($\text{CF}_3\text{CF}_2\text{CF}_2\text{I}$) (Kissa, 2001). De même, l'emploi d'un télogène de départ ramifié tel que l'iodure de perfluoroisopropyle $\text{IC}(\text{CF}_3)_2$ permet d'obtenir des mélanges d'iodures perfluoroalkylés ramifiés (Benskin et al., 2010).

Les iodures de perfluoroalkyle $\text{CF}_3\text{CF}_2(\text{CF}_2\text{CF}_2)_x\text{I}$ obtenus à la fin de la réaction de télomérisation peuvent être convertis en iodures fluorotélomériques $\text{CF}_3\text{CF}_2(\text{CF}_2\text{CF}_2)_x\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$ par addition d'éthylène ($\text{CH}_2=\text{CH}_2$). Ces composés constituent des intermédiaires clés pour la synthèse de composés polyfluoroalkylés tels que les fluorotélomères alcools (FTOH) ou les fluorotélomères sulfonates (FTSA). Les iodures fluorotélomériques peuvent également être convertis en perfluoroalkyle-2-éthane thiols ($\text{CF}_3\text{CF}_2(\text{CF}_2\text{CF}_2)_x\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$) par réaction avec le thiocarbamide $(\text{H}_2\text{N})_2\text{C}=\text{S}$ et hydrolyse consécutive du sel de thiuronium (Kissa, 2001). Les thiols obtenus peuvent être à leur tour convertis en chlorures de perfluoroalkyle-2-éthane sulfonyles ($\text{CF}_3\text{CF}_2(\text{CF}_2\text{CF}_2)_x\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{Cl}$), des intermédiaires clés pour la synthèse de fluorotélomères cationiques et amphotériques (Kissa, 2001).

Une classification générale des substances poly- et perfluoroalkylées manufacturées est proposée en **Figure 1.8**, faisant apparaître dans le cas des surfactants fluoroalkylés (PFAS) la distinction entre voies de synthèse par électro-fluoration de celle par télomérisation. Dans les paragraphes qui suivent, quelques notions de nomenclature concernant les acronymes usuels pour les PFAS sont abordées, et un bilan des principales applications des PFAS est établi.

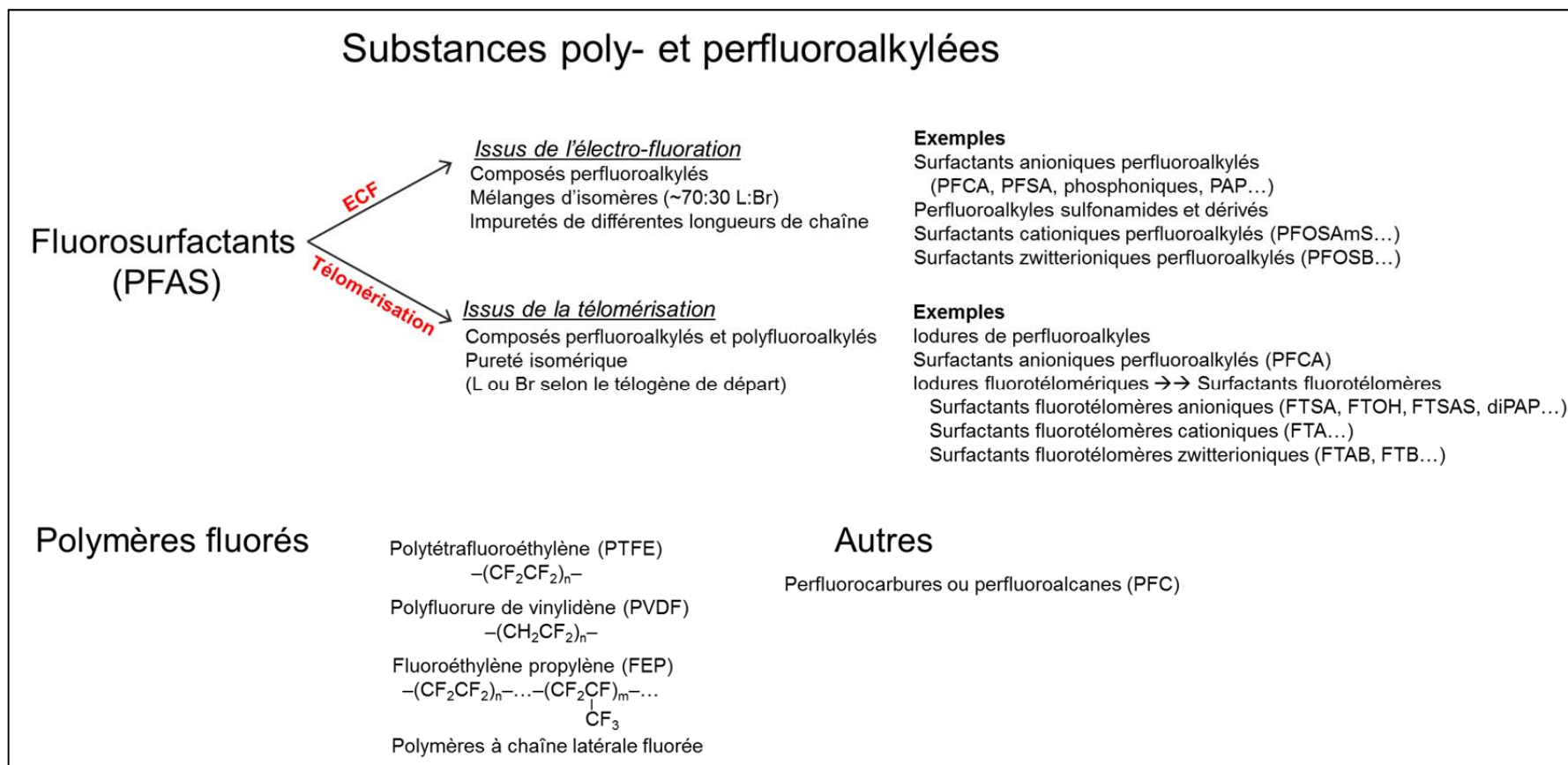


Figure 1.8. Classification générale des substances poly- et perfluoroalkylées manufacturées en trois grands groupes : i) les surfactants fluoroalkylés (PFAS), subdivisés en composés issus de l'électro-fluoruration (ECF) et en composés issus de la télomérisation ; ii) les polymères hautement fluorés ; et iii) les perfluorocarbures (PFC).

Depuis leur prise en considération comme contaminants d'intérêt émergent au début des années 2000 (Cf. § 1.2), l'acronyme « PFC » a parfois été utilisé dans la littérature pour désigner la famille des surfactants poly- et perfluoroalkylés comprenant un groupement fonctionnel polaire (Buck et al., 2011). Toutefois, en raison de la confusion possible avec les perfluorocarbures, dont certains sont des gaz à effet de serre répertoriés par le protocole de Kyoto, nous utiliserons le terme de « PFAS » (Buck et al., 2011) pour se référer à la famille de surfactants fluoroalkylés qui est ciblée dans le cadre de ces travaux.

Ainsi que nous l'avons précédemment mentionné, le procédé d'électro-fluoruration conduit à l'obtention de composés perfluoroalkylés, alors que le procédé de télomérisation peut conduire à l'obtention de composés perfluoroalkylés ou polyfluoroalkylés en fonction des étapes de synthèse postérieures à l'obtention de l'iodure de perfluoroalkyle. Dans le cas des composés perfluoroalkylés, tous les atomes d'hydrogène de la chaîne alkyle précédant le premier groupement fonctionnel ont été substitués par des atomes de fluor. Dans le cas des composés polyfluoroalkylés, seule une partie des atomes de la chaîne aliphatique précédant le premier groupement fonctionnel sont fluorés (Buck et al., 2011). On désigne généralement les PFAS polyfluoroalkylés comme « fluorotélomères » (acronyme FT) afin d'opérer la distinction par rapport aux PFAS perfluoroalkylés, bien que la télomérisation puisse conduire à l'une ou l'autre de ces catégories. Par exemple, l'acide 6:2 fluorotélomère sulfonique (6:2 FTSA, $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_2\text{SO}_3\text{H}$) possède une structure identique à celle du PFOS, à ceci près que seulement 6/8 atomes de carbone sont fluorés. Dans la chaîne fluoroalkyle du 6:2 FTSA, « 6 » désigne le nombre d'atomes de carbone perfluorés et « 2 » désigne le nombre d'atomes de carbone portant exclusivement des atomes d'hydrogène. La **Figure 1.9** ci-après donne deux exemples afin d'illustrer la différence entre PFAS perfluoroalkylés et polyfluoroalkylés.

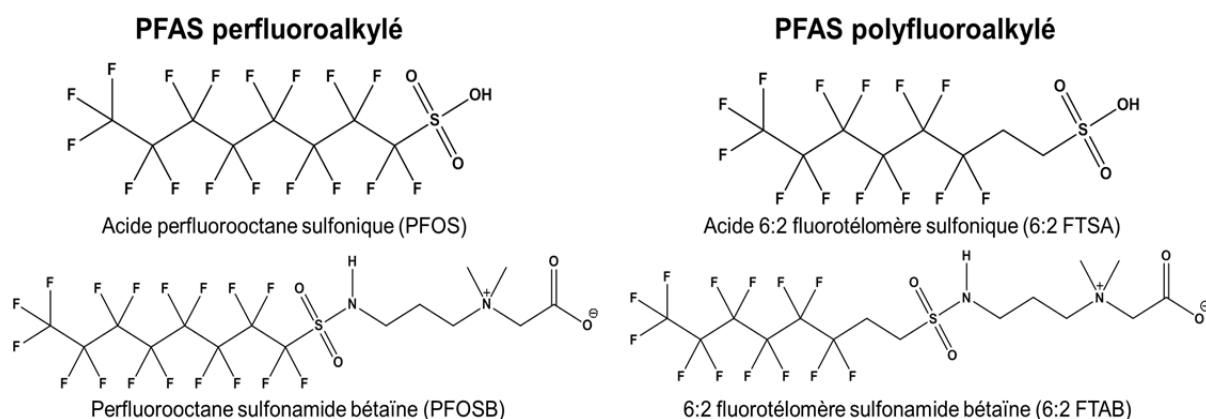


Figure 1.9. Exemples de PFAS perfluoroalkylés et polyfluoroalkylés.

Les PFAS fluorotélomériques ont généralement une chaîne polyfluoroalkyle linéaire de type X:2 où X est un nombre pair désignant le nombre d'atomes de carbone perfluoroalkylés et « 2 » traduit le nombre d'atomes de carbone portant exclusivement des atomes d'hydrogène. Ceci reflète

d'une part le procédé de télomérisation qui implique le plus souvent $\text{CF}_3\text{CF}_2\text{I}$ comme télogène de départ, et d'autre part les étapes ultérieures qui impliquent souvent la réaction d'une oléfine tel que l'éthylène ($\text{CH}_2=\text{CH}_2$) avec l'iodure de perfluoroalkyle formé, conduisant à des iodures fluorotélomériques de structure $\text{CF}_3\text{CF}_2(\text{CF}_2\text{CF}_2)_x\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$. Cependant, l'analyse de la composition de mousses extinctrices indique que des composés de chaîne polyfluoroalkyle linéaire de type X:3 (où X est un nombre impair) ont été synthétisés, ainsi que des composés de chaîne polyfluoroalkyle linéaire de type X:1:2, où X est un nombre impair désignant le nombre d'atomes de carbone perfluoroalkylés, « 1 » désigne le nombre d'atomes de carbone partiellement fluorés, et « 2 » traduit le nombre d'atomes de carbone portant exclusivement des atomes d'hydrogène (Place et Field, 2012 ; D'Agostino et Mabury, 2014) (**Figure 1.10**).

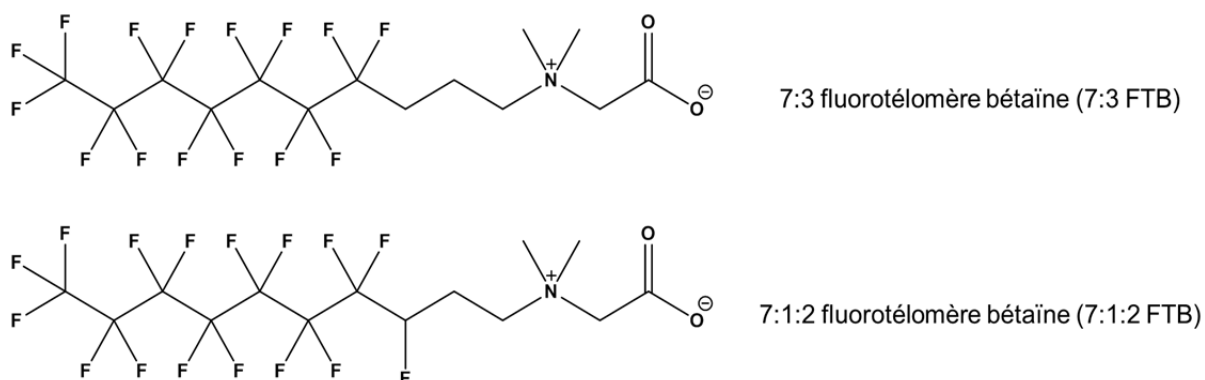
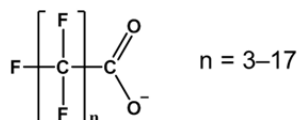


Figure 1.10. Illustration de PFAS manufacturés fluorotélomériques à chaîne polyfluoroalkyle linéaire de type X:3 et X:1:2, où X est un nombre impair.

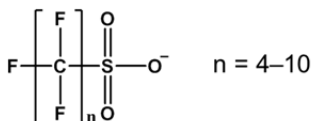
Au-delà de la typologie de la chaîne fluoroalkyle (perfluoroalkyle Vs polyfluoroalkyle), les PFAS peuvent se distinguer par la longueur de celle-ci qui peut affecter leur caractère hydrophobe et donc leur devenir dans l'environnement (Cf. § 1.2). Par ailleurs, les PFAS peuvent être classés selon la nature du groupement fonctionnel hydrophile. Ainsi, les acides perfluoroalkyle carboxyliques (PFCA) et perfluoroalkyle sulfoniques (PFSA) sont les composés les plus fréquemment étudiés dans l'environnement (Cf. § 1.2). Les **Figures 1.11** et **1.12** recensent quelques-unes des principales sous-familles de PFAS perfluoroalkylés (**Figure 1.11**) et polyfluoroalkylés (**Figure 1.12**). Le cas échéant, l'acronyme usuel associé à la sous-famille est également spécifié.

Perfluoroalkyle carboxylates (PFCA)



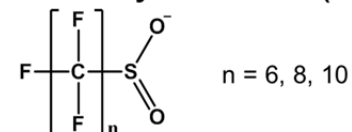
Exemples :
 n = 3 PFBA n = 9 PFDA
 n = 4 PFPeA n = 10 PFUnDA
 n = 5 PFHxA n = 11 PFDoDA
 n = 7 PFOA n = 12 PFTrDA
 n = 8 PFNA n = 13 PFTeDA

Perfluoroalkyle sulfonates (PFSA)



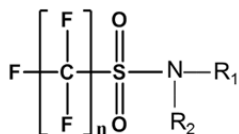
Exemples :
 n = 4 PFBS
 n = 6 PFHxS
 n = 8 PFOS
 n = 10 PFDS

Perfluoroalkyle sulfinates (PFSi)



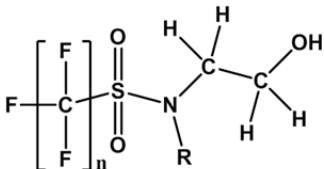
Exemple :
 n = 8 PFOSi

Perfluoroalkyle sulfonamides et dérivés (FASA, FASAA)



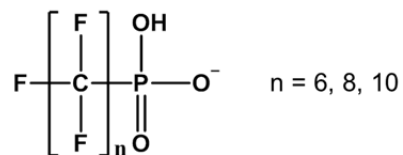
Exemples :
 n = 6, R₁ = H, R₂ = H FHxSA
 n = 8, R₁ = H, R₂ = H FOSA
 n = 8, R₁ = H, R₂ = CH₃ MeFOSA
 n = 8, R₁ = H, R₂ = CH₂CH₃ EtFOSA
 n = 8, R₁ = CH₃, R₂ = CH₂COO⁻ MeFOSAA
 n = 8, R₁ = CH₃, R₂ = CH₂COO⁻ EtFOSAA

Perfluoroalkyle sulfonamido éthanol (FASE)



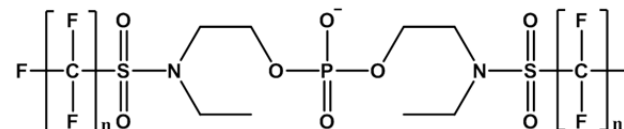
Exemples :
 n = 8, R = CH₃ MeFOSE
 n = 8, R = CH₂CH₃ EtFOSE

Perfluoroalkyle phosphonates (PFPA)



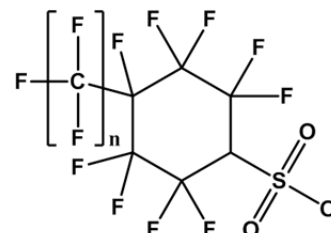
Exemple :
 n = 8 PFOPA

Perfluoroalkyle phosphate diester



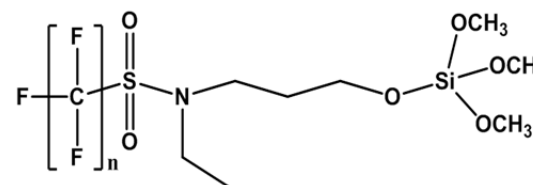
Exemple :
 n = 8 diSAmPAP

Perfluorocyclohexane sulfonate (PFCHS)



Exemples :
 n = 1 PFMeCHS
 n = 2 PFEtCHS

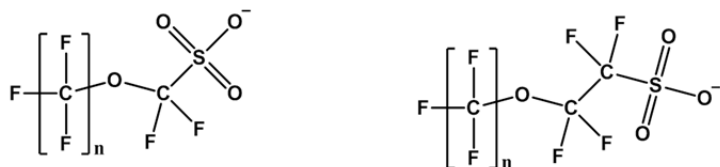
Perfluoroalkyle sulfonamide éthoxy-silylé



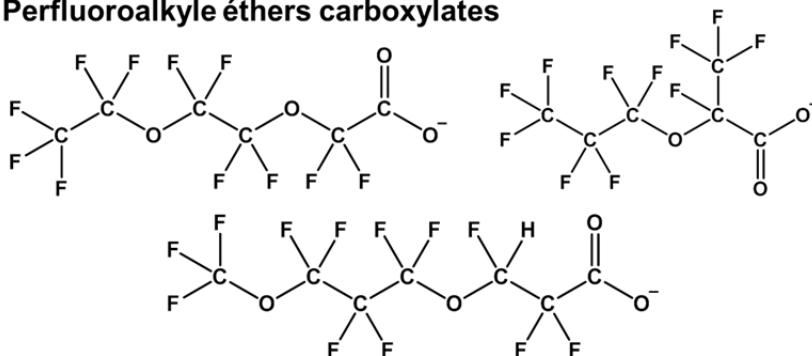
Exemple :
 n = 8 N-éthyle-N-[3-(triméthoxysilyl)propyle] perfluorooctane sulfonamide

Figure 1.11. Aperçu des principales sous-familles de PFAS perfluoroalkylés (n : nombre d'atomes de carbone perfluoroalkylés).

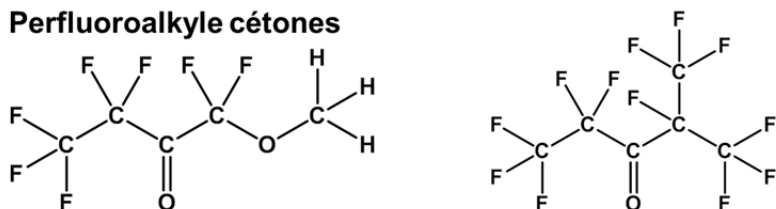
Perfluoroalkyle éthers sulfonates



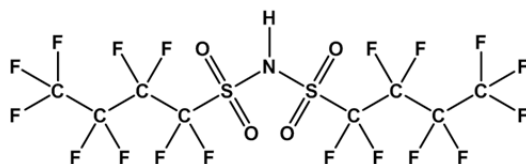
Perfluoroalkyle éthers carboxylates



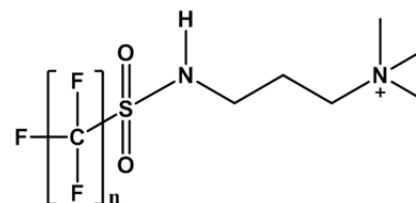
Perfluoroalkyle cétones



Perfluoroalkyle sulfonamide géminé

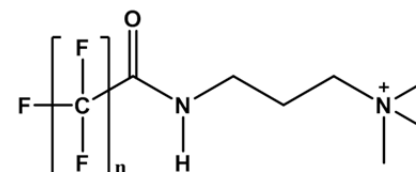


Perfluoroalkyle sulfonamido amine (IV) (PFASAmS)



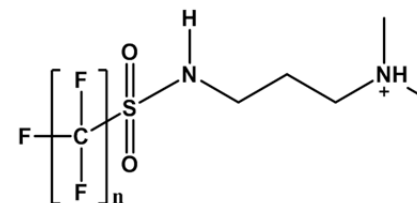
Exemple :
n = 8 PFOSAmS

Perfluoroalkyle amido amine (IV) (PFAAmS)



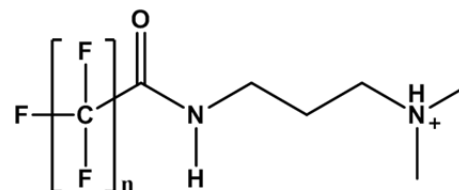
Exemple :
n = 7 PFOAAmS

Perfluoroalkyle sulfonamido amine (III) (PFASAm)



Exemple :
n = 8 PFOSAm

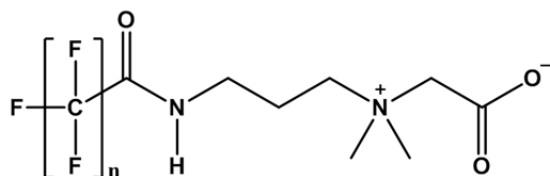
Perfluoroalkyle amido amine (III) (PFAAm)



Exemple :
n = 7 PFOAAm

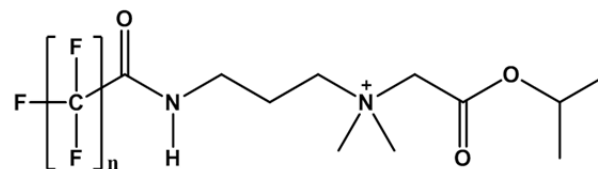
Figure 1.11. (Suite).

Perfluoroalkyle amide bétaine (PFAB)



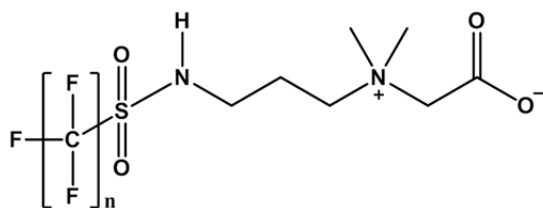
Exemple :
n = 7 PFOAB

Perfluoroalkyle amido amine isopropylester



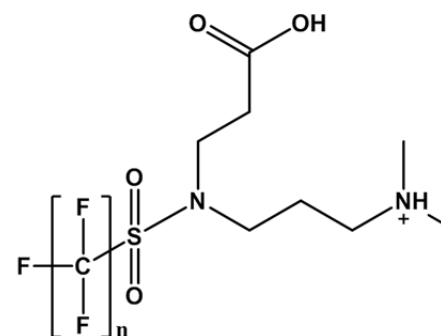
Exemple :
n = 10

Perfluoroalkyle sulfonamide bétaine (PFASB)



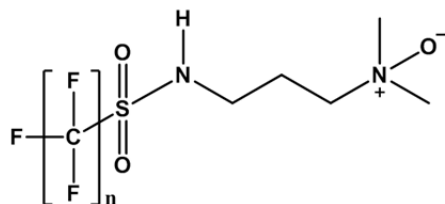
Exemple :
n = 8 PFOSB

Perfluoroalkyle sulfonamido amine carboxylate (PFASAC)



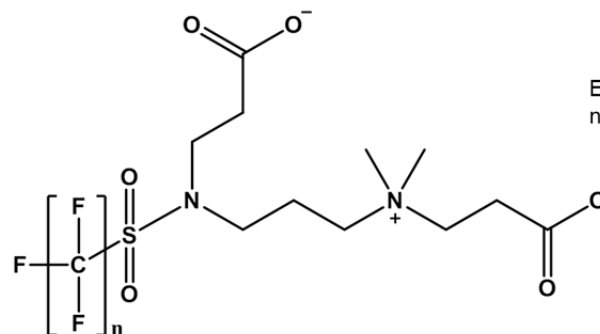
Exemple :
n = 8 PFOSAC

Perfluoroalkyle sulfonamido amine oxide (PFASNO)



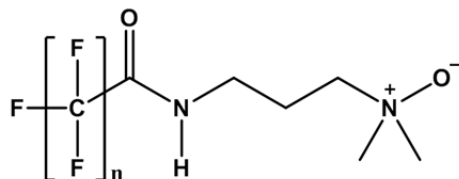
Exemple :
n = 8 PFOSNO

Perfluoroalkyle sulfonamido bétaine carboxylate (PFASBC)



Exemple :
n = 6 PFHxASBC

Perfluoroalkyle amido amine oxide (PFAANO)

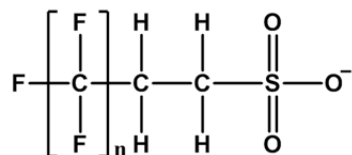


Exemple :
n = 7 PFOANO

Figure 1.11. (Suite).

Fluorotélomère sulfonates (FTSA)

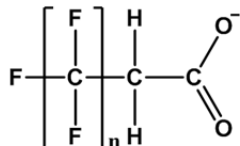
X:2 FTSA



Exemples :
 n = 4 4:2 FTSA
 n = 6 6:2 FTSA
 n = 8 8:2 FTSA

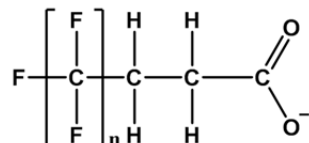
Fluorotélomère carboxylates (FTCA)

X:2 FTCA



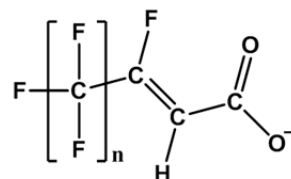
Exemple :
 n = 6 6:2 FTCA

X:3 FTCA



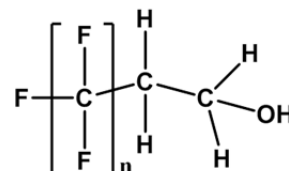
Exemple :
 n = 7 7:3 FTCA (7:3 Acide)

Fluorotélomères carboxylates insaturés (FTUCA)



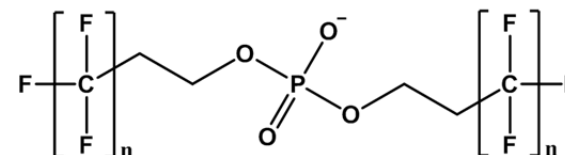
Exemples :
 n = 5 6:2 FTUCA
 n = 7 8:2 FTUCA
 n = 9 10:2 FTUCA

Fluorotélomères alcools (FTOH)



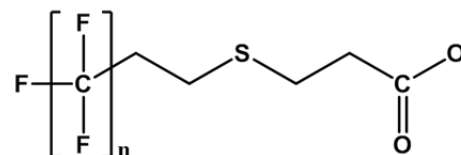
Exemples :
 n = 6 6:2 FTOH
 n = 8 8:2 FTOH

Polyfluoroalkyle phosphate diesters (diPAP)



Exemples :
 n = 6 6:2 diPAP
 n = 8 8:2 diPAP

Fluorotélomères mercapto alkyle carboxylates



Exemples : n = 6 n = 8

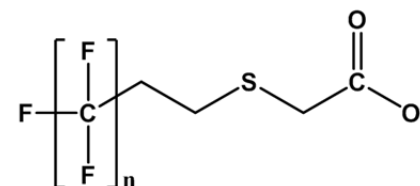
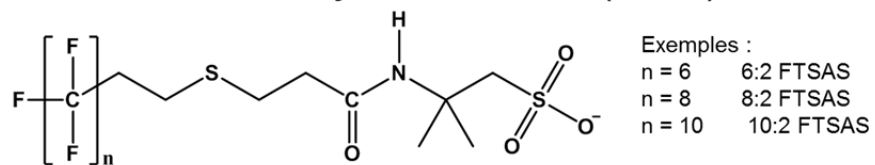
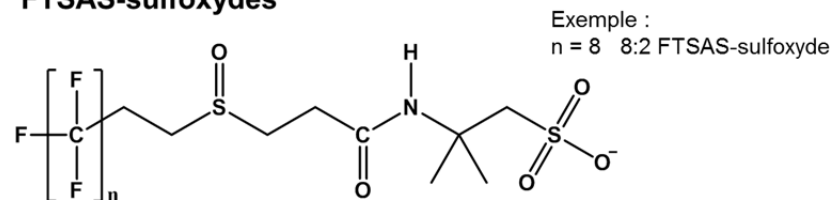


Figure 1.12. Aperçu des principales sous-familles de PFAS polyfluoroalkylés (n : nombre d'atomes de carbone perfluoroalkylés).

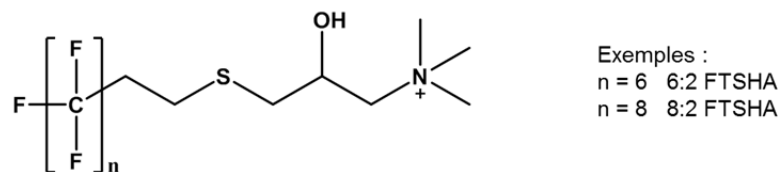
Fluorotélomère thioalkylamido sulfonates (FTSAS)



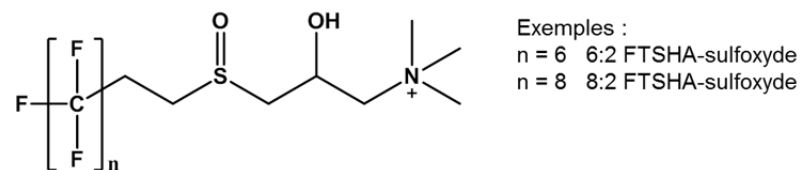
FTSAS-sulfoxydes



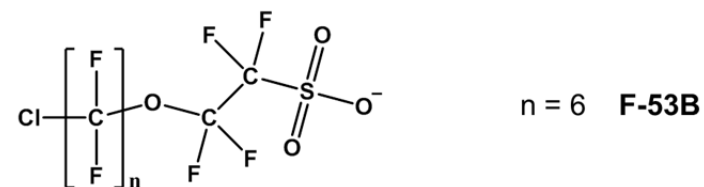
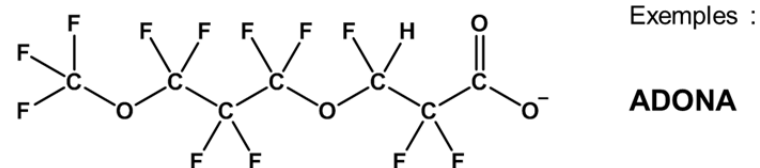
Fluorotélomère thiohydroxyammonium (FTSHA)



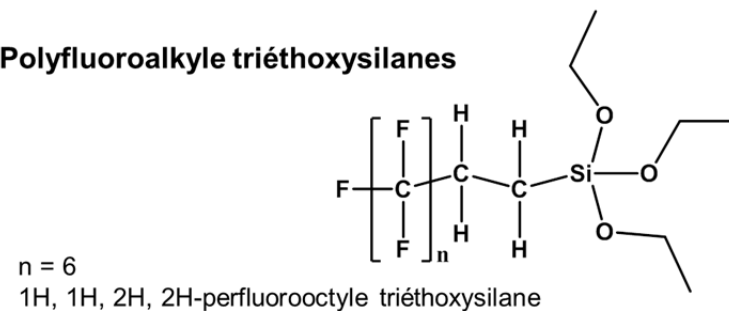
FTSHA-sulfoxydes



Surfactants à chaîne polyfluoroalkyle éthoxylée



Polyfluoroalkyle triéthoxysilanes



Fluorotélomères acrylates

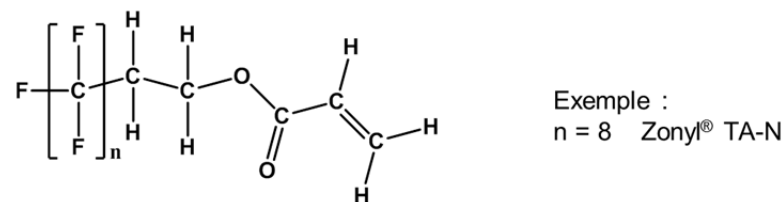
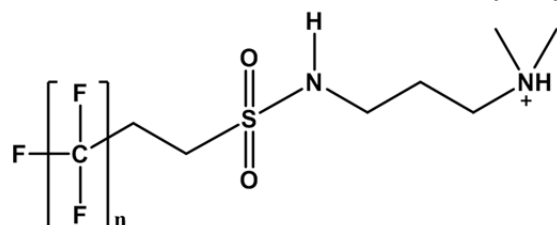


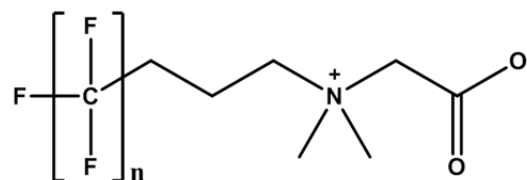
Figure 1.12. (Suite).

Fluorotélomère sulfonamido amines (FTA)



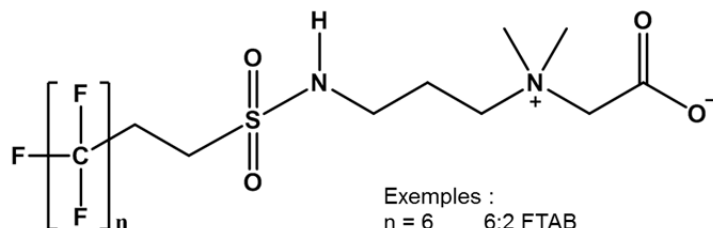
Exemples :
 $n = 6$ 6:2 FTA
 $n = 8$ 8:2 FTA

Fluorotélomère bétaines (FTB)

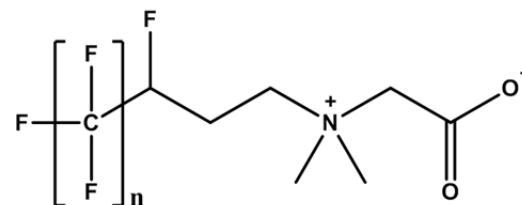


Exemples :
 $n = 5$ 5:3 FTB
 $n = 7$ 7:3 FTB
 $n = 9$ 9:3 FTB
 $n = 11$ 11:3 FTB
 $n = 13$ 13:3 FTB

Fluorotélomère sulfonamide bétaines (FTAB)

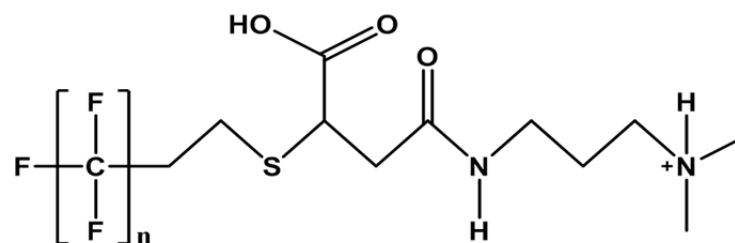


Exemples :
 $n = 6$ 6:2 FTAB
 $n = 8$ 8:2 FTAB
 $n = 10$ 10:2 FTAB
 $n = 12$ 12:2 FTAB



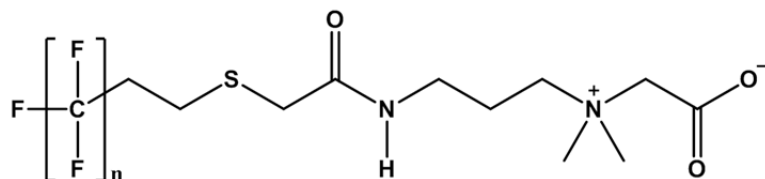
Exemples :
 $n = 5$ 5:1:2 FTB
 $n = 7$ 7:1:2 FTB
 $n = 9$ 9:1:2 FTB
 $n = 11$ 11:1:2 FTB
 $n = 13$ 13:1:2 FTB

Fluorotélomère thioalkyle amido amine carboxylates (FTSAAC)



Exemples :
 $n = 6$ 6:2 FTSAAC
 $n = 8$ 8:2 FTSAAC
 $n = 10$ 10:2 FTSAAC

Fluorotélomère thioalkylamido bétaines (FTSAB)



Exemples :
 $n = 6$ 6:2 FTSAB
 $n = 8$ 8:2 FTSAB
 $n = 10$ 10:2 FTSAB
 $n = 12$ 12:2 FTSAB

Figure 1.12. (Suite).

Historiquement, l'une des premières applications des PFAS est survenue dans le domaine des mousses extinctrices hautes performances, lorsqu'au milieu des années 1960 le laboratoire de recherche de la marine américaine (« US Naval Research Laboratory ») propose l'emploi de dérivés perfluoroalkylés pour lutter contre les feux d'hydrocarbures (Tuve et al., 1966). Antérieurement, les mousses extinctrices à base de protéines (kératines, albumines et globulines hydrolysées) étaient généralement employées contre ce type d'incendie (Casey et Silvia, 1970), suite à la découverte de l'allemand Weissenborn en 1937 (Weissenborn, 1939). Malgré la présence d'un stabilisant tel que le sulfate de fer, ces mousses protéiniques étaient relativement délicates à appliquer aux feux d'hydrocarbures, et la moindre perturbation du film de mousse pouvait s'accompagner d'une ré-inflammation spontanée ; par ailleurs, ces mousses pâtissaient d'une durée de stockage limitée avant application, et s'avéraient peu compatibles avec l'application simultanée de poudres extinctrices (Tuve et al., 1966 ; Alm et al., 1992). Du fait de leurs excellentes propriétés tensioactives et de leur résistance à la chaleur, les formulations aqueuses de surfactants hautement fluorés facilitent la formation durable d'un film à l'interface entre le combustible et la mousse ; cette frontière à la fois imperméable aux vapeurs du combustible et au comburant (O₂) permet d'étouffer les flammes et de prévenir la reprise de l'incendie (Moody et Field, 2000). D'où le nom d'agents formant un film flottant pour désigner ce type de mousses extinctrices (AFFF : « Aqueous Film Forming Foams »). Les mousses AFFF sont d'utilisation commune au niveau des aéroports civils et des bases militaires (feux de kérosène), des sites industriels, notamment les raffineries de pétrole, et de manière plus générale au niveau des sites d'entraînement des services de sécurité incendie. Il convient de noter que les formulations commerciales d'AFFF sont des mélanges complexes, qui peuvent comprendre, outre des tensioactifs fluoroalkylés, un éthoxylate d'alcool (tel que l'éther butylique du diéthylène glycol : CH₃(CH₂)₃O(CH₂)₂O(CH₂)₂OH), un alcool gras (tel que le dodécanol : CH₃(CH₂)₁₁OH), des agents stabilisants et des inhibiteurs de corrosion, ainsi que des composés polymériques hydroabsorbants (tels que les polysaccharides à base de xanthane) permettant de garantir la stabilité de la mousse lorsque celle-ci entre en contact avec un feu d'hydrocarbure polaire (Jho et al., 1996; Moody et Field, 2000; Pabon et Corpart, 2002).

Grâce aux propriétés à la fois hydrophobe et lipophobe que leur confère leur chaîne poly- ou perfluorocarbonée (propriétés de répulsion à l'eau et à l'huile), les PFAS et les dérivés polymériques tels que le PTFE (Téflon®) et le polyfluorure de vinylidène (PVDF) peuvent être employés dans l'industrie pour le traitement final des moquettes, du cuir, des vêtements, des emballages alimentaires, ou des ustensiles de cuisine (Krafft et Riess, 2015). Le PFOS et ses précurseurs peuvent être utilisés comme adjuvants dans la récupération assistée du pétrole, dans l'industrie photographique et électronique, et dans le placage des métaux (UNEP/POPS/POPRC.6/13/Add.3/Rev.1). Le PFOA et le PFNA peuvent être utilisés comme adjuvants lors du procédé de fabrication de polymères fluorés (PTFE, PVDF) (Benskin et al., 2010).

Les PFAS interviennent également dans la composition de nombreux produits ménagers (entretien des chaussures, du sol, du mobilier, de l'habacle des automobiles), dans la composition de cires pour les sports de glisse (wax), ainsi que comme additifs dans les encres d'imprimerie (UNEP/POPS/POPRC.6/13/Add.3/Rev.1 ; OCDE, 2013 ; Krafft et Riess, 2015). Des formulations à base de N-éthyle perfluorooctane sulfonamide (EtFOSA) sont parfois employées comme insecticide, sous le nom de sulfuramide (UNEP/POPS/POPRC.6/13/Add.3/Rev.1).

Par ailleurs, les PFAS peuvent s'avérer déterminants dans des secteurs de pointe tels que l'aviation et l'aérospatiale, afin de garantir la sécurité des équipements en conditions extrêmes de fonctionnement. A cet égard, le sel de perfluorooctane sulfonate de potassium (PFOS-K) est le dérivé historiquement utilisé depuis les années 1970 environ (Smith, 1972) dans la formulation de fluides hydrauliques pour avions civils et militaires. L'élimination progressive du POSF, du PFOS, et de leurs sels à partir des années 2000 (Cf. § 1.2.a) a conduit les industriels à employer des produits de substitution, par exemple à base de dérivés méthylés et éthylés de l'acide perfluorocyclohexane sulfonique (le PFMeCHS et l'PFEtCHS, respectivement) (De Silva et al., 2011 ; UNEP/POPS/POPRC.6/13/Add.3/Rev.1). Les polymères fluorés tels que le PTFE peuvent intervenir dans la composition des joints toriques pour astronefs (Krafft et Riess, 2015) ; par le passé, le choix d'un matériau insuffisamment adapté pour ces joints avait été l'un des facteurs critiques conduisant à l'accident de la navette spatiale Challenger (Phimister et al., 2003).

Depuis les années 2000, les industriels ont engagé des efforts pour trouver des alternatives viables au PFOS, à ses précurseurs, et aux acides perfluoroalkyle carboxyliques (PFCA) à moyenne ou longue chaîne ($n_C \geq 7$), des composés potentiellement bioaccumulables et toxiques (Cf. § 1.2). De manière générale, les industries manufacturières de PFAS s'orientent vers des acides perfluoroalkylés de plus courte chaîne tels que le PFBS ($n_C = 4$) ou le PFHxA ($n_C = 5$), des surfactants polyfluoroalkyle polyéthoxylés (ex : ADONA) ou d'autres dérivés polyfluoroalkylés (ex : 6:2 FTSA, 6:2 FTAB) (**Figures 1.11 et 1.12**). Nous citons plus haut l'introduction de sulfonates de perfluoroalkyle cycliques en remplacement du PFOS dans les fluides hydrauliques utilisés dans l'aviation, mais il existe d'autres exemples (UNEP/POPS/POPRC.6/13/Add.3/Rev.1 ; Wang et al., 2013). Ainsi la compagnie 3M utilise-t-elle le perfluorobutane sulfonate (PFBS) ou l'un de ses dérivés (ex : perfluorobutane sulfonyl uréthane) dans les nouvelles formulations de ScotchGardTM pour la protection des textiles (UNEP/POPS/POPRC.6/13/Add.3/Rev.1). Le tétraéthylammonium de perfluorobutane sulfonate ($\text{CF}_3\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2\text{SO}_3^- (\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{N}^+$) est utilisé pour le placage des métaux, ainsi que des sulfonates polyfluoroalkylés tels que le 6:2 FTSA ou le F-53B, dont les structures sont présentées en **Figure 1.12** (Wang et al., 2013 ; Ruan et al., 2015). Concernant les mousses extinctrices de type AFFF, les composés récemment identifiés incluent des PFAS anioniques, cationiques, et zwitterioniques, de chaîne perfluoroalkylée ou polyfluoroalkylée (Place et Field, 2012 ; D'Agostino et Mabury, 2014). Ainsi, DuPont commercialise des formulations AFFF à base de 6:2 fluorotélomère sulfonamide bétaine (**Figure 1.9**) ou de 6:2 fluorotélomère sulfonamido amine oxide ($\text{C}_6\text{F}_{13}\text{C}_2\text{H}_4\text{SO}_2\text{NHC}_3\text{H}_6\text{NO}(\text{CH}_3)_2$) sous le nom de Forafac[®] 1157 et 1183, respectivement (Moe et al., 2012 ; Wang et al., 2013). Bien que les données écotoxicologiques concernant les PFAS de substitution soient relativement limitées (Ahrens et Bundschuh, 2014 ; Hoke et al., 2015), gageons que ces composés alternatifs seront sans doute moins bioaccumulables et moins persistants que ceux qu'ils remplacent. La notion de performance est, elle aussi, à prendre en compte : le remplacement du PFOS par des composés alternatifs de propriétés tensioactives plus limitées pourrait se voir compensé par une augmentation des concentrations de ces derniers dans les formulations – et, par voie de conséquence, à une potentielle augmentation des concentrations environnementales de ces composés ou de leurs produits de dégradation par rapport aux composés qu'ils remplacent.

I.2. DES POLLUANTS ENVIRONNEMENTAUX D'INTERÊT EMERGENT

Ainsi que nous l'avons évoqué dans la section précédente, les PFAS, tensioactifs organofluorés d'origine synthétique, englobent une importante diversité de composés dont le point commun est de comporter une chaîne poly- ou perfluoroalkylée, ainsi qu'un ou plusieurs groupements fonctionnels polaires (Cf. § I.1.b) (**Figures 1.11 et 1.12**). Leurs excellentes propriétés tensioactives, ainsi que leur stabilité thermique et chimique, expliquent le succès rencontré par ces composés dans un grand nombre d'applications stratégiques au cours des soixante dernières années (Cf. § I.1.b). Effet corollaire de ces propriétés et de la forte augmentation de la production industrielle de PFAS entre les années 1970 et 2000, il était vraisemblable que les PFAS s'accumulent dans l'environnement et finissent par faire surface comme polluants organiques dans un nombre croissant d'études – le développement de procédures analytiques suffisamment fiables et sensibles permettant à partir des années 2000 d'assurer leur détection à l'état de traces voire d'ultra-traces (Ahrens, 2011 ; Buck et al., 2011). Cette section propose, après une contextualisation de l'émergence des PFAS comme polluants environnementaux (§ I.2.a), une synthèse des techniques mises en œuvre pour leur analyse dans les matrices environnementales (§ I.2.b). La suite de cette section s'articule autour de la problématique de l'appartenance des PFAS à la famille des polluants organiques persistants, bioaccumulables et toxiques (critères PB&T), examinant leur propriétés physico-chimiques (§ I.2.c), leur toxicité (§ I.2.e), ainsi que leur occurrence dans les compartiments abiotiques (§ I.2.d) et biotiques (§ I.2.f).

I.2.a. Historique de l'émergence des PFAS comme polluants

L'introduction des PFAS dans l'environnement peut intervenir sous forme de rejets directs des unités de production de composés organofluorés, tels que les effluents d'usines de production de PFAS ou les effluents d'usines de production de polymères fluorés faisant intervenir les PFAS comme auxiliaires technologiques (Prevedouros et al., 2006). La dispersion locale des mousses extinctrices de type AFFF lors d'exercices de simulation ou lors de plans d'intervention d'urgence anti-incendie est une autre source d'émission directe de PFAS (Moody et Field, 2000). Les stations de traitement des eaux usées peuvent également introduire d'importantes quantités de PFAS dans l'environnement, via leurs effluents liquides (rejet au fleuve) et solides (épandage de boues en milieu agricole) (Möller et al., 2010) (Cf. § I.2.c). L'apport des eaux de ruissellement et les phénomènes de résurgence des eaux souterraines sont des exemples de sources de PFAS diffuses (Mukarami et al., 2009). Se classent également dans cette catégorie les relargages de PFAS à partir de tout produit manufacturé auquel un traitement de surface faisant intervenir les PFAS a été appliqué (usure progressive des produits au cours de leur cycle de vie, lixiviation des déchets stockés dans les décharges) (Prevedouros et al., 2006). Les zones à forte pression urbaine et industrielle constituent donc des sources majeures d'émission de PFAS. Il existe également des sources « indirectes » d'acides perfluoroalkylés, via la dégradation de composés précurseurs (Liu et Mejia-Avendaño, 2013). Par exemple, le perfluorooctane sulfonamide (FOSA) et ses dérivés peuvent être biotransformés en PFOS, que ce soit

par dégradation microbienne (**Figure 1.13**) (Liu et Mejia-Avendaño, 2013) ou par métabolisation chez les organismes de niveau trophique supérieur (Tomy et al., 2004). Lors d'une expérience d'incubation de sédiments marins durant quatre mois, Benskin et al. (2013) ont estimé à 12 % le rendement molaire de conversion de l'EtFOSE en PFOS.

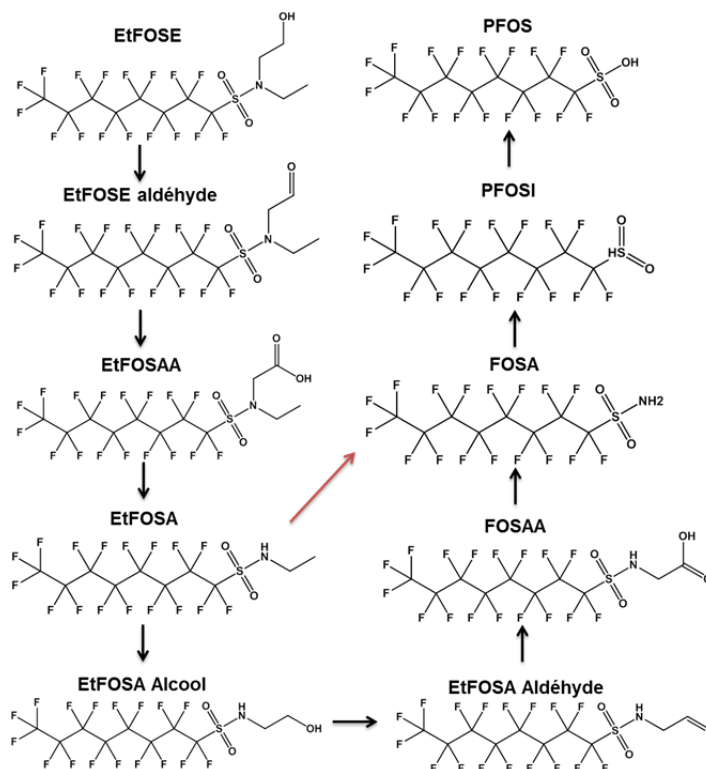


Figure 1.13. Schéma illustrant la voie de dégradation aérobie du N-éthyle perfluorooctane sulfonamido éthanol (EtFOSE) dans les boues activées conduisant à la formation de perfluorooctane sulfonate (PFOS). D'après Liu et Mejia-Avendaño (2013).

Les composés polyfluoroalkylés tels que les fluorotélomères alcools (FTOH) ou les fluorotélomères sulfonates (FTSA) sont quant à eux susceptibles d'entraîner la formation de perfluoroalkyle carboxylates (Liu et Mejia-Avendaño, 2013). Lors d'expériences en microcosmes (ex : sédiments, sols, boues activés), les rendements de conversion molaire au bout de quelques semaines ou quelques mois d'incubation étaient de l'ordre de 2–40 % pour le PFOA à partir du 8:2 FTOH (Wang et al., 2009), 4,5–8,4 % pour le PFHxA et 4,2–30 % pour le PFPeA à partir du 6:2 FTOH (Liu et al., 2010a,b ; Zhao et al., 2013), ou encore 1,1–1,5 % pour le PFHxA et le PFPeA à partir du 6:2 FTSA (Wang et al., 2011). Récemment, Moe et al. (2012) ont également suggéré que la 6:2 fluorotélomère bétaine (6:2 FTAB), tensioactif clé de la formulation Forafac® 1157 (DuPont), pouvait être dégradée par photolyse ou métabolisation pour conduire à la formation de 6:2 fluorotélomère sulfonamide.

Entre les années 1970 et 2000, la production du perfluorooctane sulfonyl fluoride (POSF) par la compagnie 3M (Cf. § 1.1.b) n'a cessé de croître pour atteindre près de 3 600 tonnes annuelles en 1990 (**Figure 1.14**) (Paul et al., 2008). La production totale cumulée de POSF à l'échelle mondiale

entre 1970 et 2002 avoisine probablement les cent mille tonnes, dont près de la moitié a pu finir dans l'environnement sous forme de rejets directs et indirects (Paul et al., 2008). La production totale annuelle de POSF atteint probablement son maximum à la fin des années 1990 avec près de 4600 tonnes produites (3M + autres compagnies), avant de subir un net décrochage au début des années 2000, suite à la décision de la compagnie 3M de cesser sa production de POSF et de composés qui en sont dérivés comme le perfluorooctane sulfonate (PFOS) (Paul et al., 2008). Les paragraphes suivants proposent un bref résumé des événements ayant conduit à l'émergence des PFAS comme polluants environnementaux.

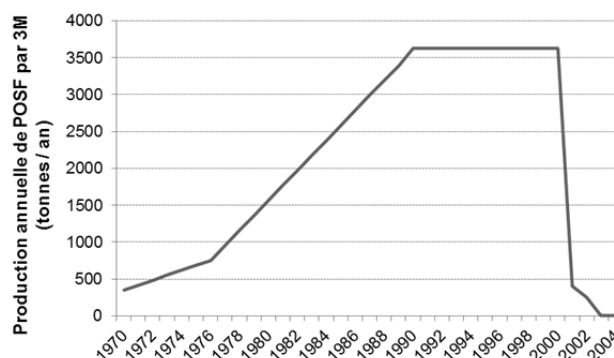


Figure 1.14. Estimation de la production annuelle de perfluorooctane sulfonyle fluorure (POSF) par la compagnie 3M (Adapté de Paul et al., 2008).

Environ une vingtaine d'années après le début de la production industrielle de tensioactifs perfluoroalkylés par électro-fluoration (Simons, 1949), on retrouve la trace de premières suspicions quant à la présence de fluor sous forme organique dans le sérum humain (Taves, 1968). Les travaux de Donald R. Taves, publiés dans le journal *Nature*, indiquent que les concentrations élevées de fluor observées dans le sérum humain ne peuvent être seulement attribuées à une contribution inorganique (ions fluorures F^-), mais impliquent probablement la présence de molécules aliphatiques fluorées de structure inconnue que l'auteur désigne sous le terme de fluorocarbures (« fluorocarbons »). Par ailleurs, l'auteur suggère que cette contribution de fluor organique semble associée aux protéines plasmatiques (« Extra-fluoride seems to be associated with the albumin ») (Taves, 1968). L'équipe de Taves conclura, après examen du spectre de résonance magnétique nucléaire du fluor (RMN du ^{19}F) de fractions purifiées d'échantillons de plasma humain, que ceux-ci contiennent bel et bien une portion organique fluorée dont les principaux composés s'apparentent probablement à l'acide perfluorooctanoïque (PFOA) (Guy et al., 1976 ; Johansen et al., 1979). Belisle et Hagen proposent en 1978 une nouvelle méthode d'analyse du fluor total dans les échantillons de sang humain par chromatographie en phase gazeuse et détection par ionisation de flamme (GC-FID), puis, en 1980, une méthode portant spécifiquement sur l'analyse de l'acide perfluorooctanoïque (PFOA) par chromatographie en phase gazeuse et détection par capture d'électrons (GC-ECD) (Cf. § 1.2.b). Au cours des deux décennies suivantes, quelques études se succèdent sur la détermination du PFOA dans le sang / l'urine d'individus exposés ou non aux tensioactifs organofluorés par leur activité professionnelle (Ubel, 1980 ; Belisle, 1981 ; Gilliland et Mandel, 1996 ; Olsen et al., 1998). En

revanche, la toxicité et la toxico-cinétique des acides perfluoroalkylés (principalement le PFOA, le PFDA et le PFOS) font l'objet de plusieurs dizaines de travaux de recherche durant cette période, dans la lignée des premières études de toxicité sur le PFOA et le sel de perfluorooctanoate d'ammonium (APFO) (Ophaug et Singer, 1980 ; Hanhijärvi et al., 1982 ; Olson et Andersen, 1983 ; Staples et al., 1984). A noter que les laboratoires de 3M et DuPont, principales compagnies productrices de PFAS à l'époque, apportent également des contributions sur le sujet (Griffith et Long, 1980 ; Johnson et al., 1984 ; Kennedy, 1985 et 1987 ; Kennedy et al., 1986).

La période 1999–2001 marque le véritable tournant qui voit l'émergence des PFAS comme polluants organiques environnementaux. Des concentrations en acides perfluoroalkyle carboxyliques (PFCA) allant jusqu'à quelques mg L^{-1} sont relevées dans les eaux souterraines impactées par des activités impliquant l'utilisation de mousses extinctrices AFFF, au niveau des bases militaires américaines de Fallon (US Navy) et de Tyndall (US Air Force) (Moody et Field, 1999). La même année, la compagnie 3M révèle des teneurs moyennes de PFOS de l'ordre de 2 ppm ($\sim 2 \mu\text{g mL}^{-1}$) dans le sang de travailleurs masculins de ses unités de production de Decatur (Alabama) aux USA et d'Anvers en Belgique (échantillonnage conduit en 1995 et 1997) (Olsen et al., 1999). En 2001, Giesy et Kannan révèlent pour la première fois l'occurrence globale du PFOS chez les êtres vivants, y compris pour des animaux évoluant dans des environnements pourtant très éloignés des sites de fabrication ou d'utilisation de ces composés (**Figure 1.15**). A l'inverse, les trois autres contaminants ciblés par leur étude, le PFOA, le perfluorohexane sulfonate (PFHxS) et le perfluorooctane sulfonamide (FOSA), ne sont détectés que de façon occasionnelle (Giesy et Kannan, 2001). L'analyse instrumentale des PFAS faisait intervenir une séparation par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem par une source d'ionisation electrospray opérée en mode négatif (Giesy et Kannan, 2001 ; Hansen et al., 2001). L'immense majorité des publications environnementales qui suivront feront également appel à ce type de couplage pour l'analyse des PFAS (van Leeuwen et de Boer, 2007 ; Valsecchi et al., 2013) (Cf. § 1.2.b).

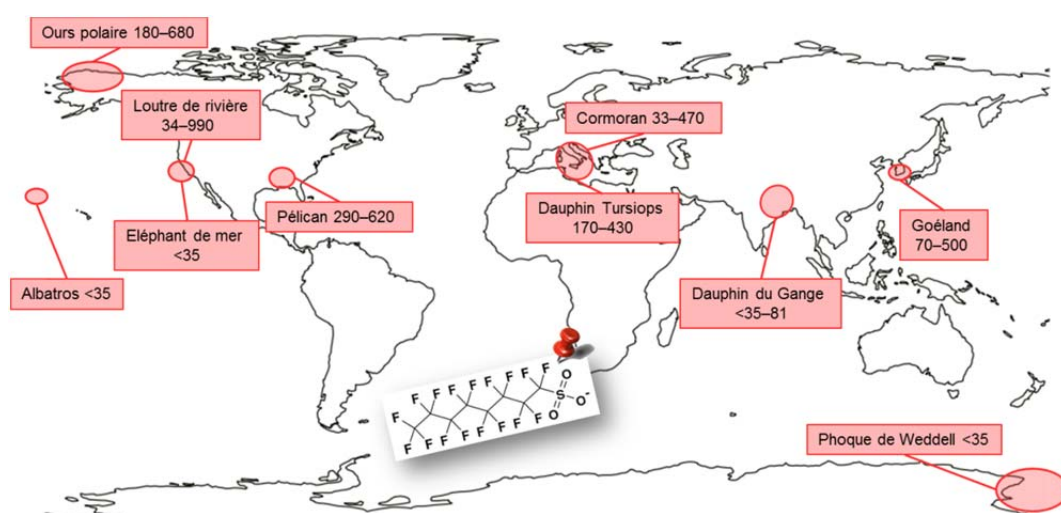


Figure 1.15. Teneurs de perfluorooctane sulfonate (PFOS) dans le foie d'oiseaux marins et de mammifères marins (ng g^{-1} de poids frais) (min–max). Adapté de Giesy et Kannan (2001).

L'observation récurrente de PFOS dans le foie et le plasma de plusieurs grandes classes animales (oiseaux, mammifères, poissons, reptiles et batraciens) à l'échelle mondiale suggère que ce contaminant est devenu ubiquiste chez les êtres vivants (Giesy et Kannan, 2001). A cette découverte viennent s'ajouter des inquiétudes grandissantes concernant la toxicité du PFOS (Renner, 2001) (Cf. § 1.2.c). Dans leur ensemble, ces résultats expliquent que la compagnie 3M ait pris les devants et acté l'arrêt de sa production de PFOS et de POSF au début des années 2000 (3M, 2000 ; US EPA, 2000). Après 2001, la littérature sur les PFAS connaît une expansion rapide, pour atteindre une dizaine d'années plus tard un rythme supérieur à 400 publications par an (**Figure 1.16**). Le PFOA et le PFOS sont de loin les composés les plus étudiés, en raison de l'intérêt particulier accordé au PFOA au cours des premières années (présence dans le sang humain, toxicité) et de la révélation en 2001 du potentiel de bioaccumulation du PFOS (Giesy et Kannan, 2001 ; Kannan et al., 2001a et 2001b) (**Figure 1.17**). Ceci explique également que ces deux composés aient fini par faire l'objet de réglementations afin d'en limiter la production et l'utilisation (**Figure 1.17**).

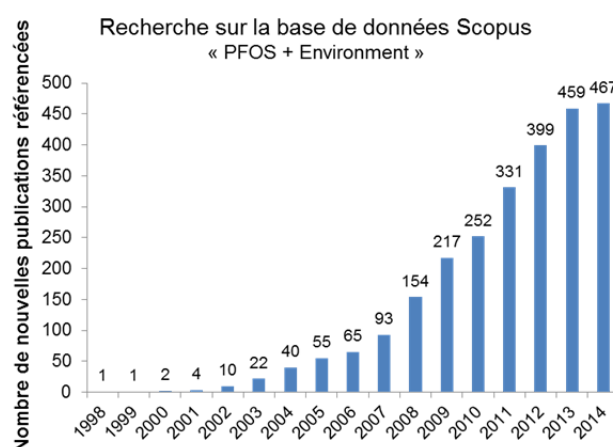


Figure 1.16. Nombre de nouvelles publications référencées par année (recherche réalisée sur la base de données Scopus avec les mots clés « PFOS » et « Environment ») entre 1998 et 2014.

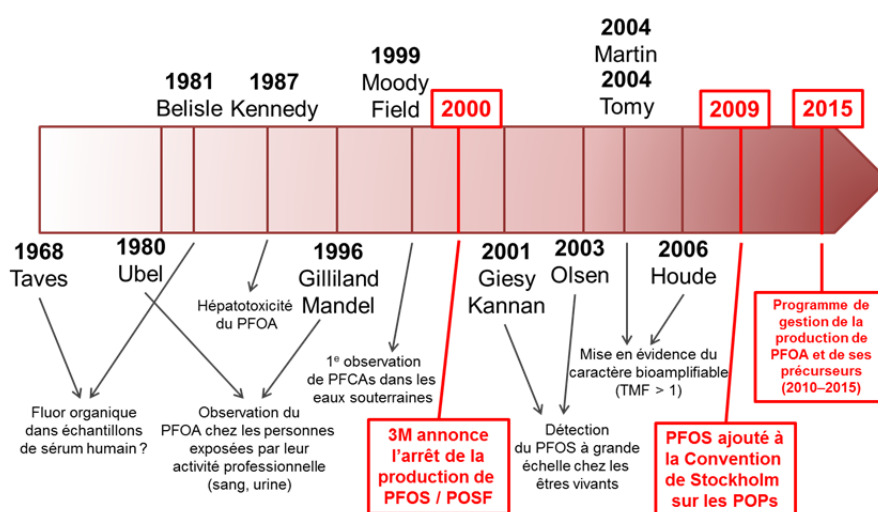


Figure 1.17. Chronologie générale des événements marquants ayant conduit à la prise en considération des PFAS comme contaminants d'intérêt émergent.

En 2009, le POSF, le PFOS, le perfluorooctane sulfonate de potassium (PFOS-K), le perfluorooctane sulfonate de lithium (PFOS-Li), le perfluorooctane sulfonate d'ammonium (PFOS-NH₄), le perfluorooctane sulfonate de di-éthanol ammonium (PFOS-DEA), le perfluorooctane sulfonate de tétraéthylammonium (PFOS-TEA) et le perfluorooctane sulfonate de di(décyl)di(méthyl)ammonium (PFOS-DDA) sont ajoutés à l'annexe B de la Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants (POPs) (UNEP-POPS-COP.4-SC-4-17). Ceci conclut un processus engagé depuis 2005 lorsque le Ministère de l'Environnement suédois a pour la première fois proposé d'indexer le PFOS à l'annexe A de la Convention de Stockholm (pour un récit détaillé, se référer au document UNEP-POPS-POPRC.6-13-Add.3-Rev.1). Par la suite, l'Union Européenne a pris des mesures afin de limiter l'utilisation de PFOS ou de formulations à base de PFOS ; ainsi, l'utilisation de mousses extinctrices AFFF à base de PFOS y est interdite depuis 2011. Cependant, un certain nombre de secteurs bénéficient d'exemptions provisoires (ex : placage des métaux, photolithographie, fluides hydrauliques pour l'aviation) jusqu'à ce que des alternatives viables soient disponibles (Règlement UE n°757/2010 de la Commission du 24 août 2010). Le Canada a cessé ses importations de mousses extinctrices AFFF à base de PFOS depuis 2002, et prévoit l'élimination des stocks accumulés antérieurement à 2002 d'ici à 2015 (de Silva et al., 2011). Toutefois, le PFOS reste encore produit en Chine, une part importante de la production étant dédiée aux mousses anti-incendie (Carloni, 2009 ; Xie et al., 2013 ; UNEP/POPS/POPRC.6/13/Add.3/Rev.1). Il a été estimé que le PFOS y est encore utilisé à hauteur de 100 tonnes par an pour la production de mousses extinctrices de type AFFF ; notons que ces formulations à base de PFOS ont été introduites en Chine depuis les années 1990 comme substituts aux halogénoalcanes (ex : Halon 1211, 1301) en raison de leur potentiel d'appauvrissement de la couche d'ozone (UNEP/POPS/POPRC.6/13/Add.3/Rev.1). Pour l'Union Européenne et le Canada, les stocks de mousses extinctrices AFFF à base de PFOS étaient estimés au milieu des années 2000 à environ 120 et 300 tonnes, respectivement (UNEP/POPS/POPRC.6/13/Add.3/Rev.1). Au Japon, ces stocks avoisinent probablement les 20 000 tonnes, dont près de la moitié sont répartis dans 23 000 parkings souterrains ; le coût total afférent à la destruction et au remplacement de ces stocks a été estimé à près de 170 millions d'euros (UNEP/POPS/POPRC.6/13/Add.3/Rev.1).

Par ailleurs, les principaux producteurs de PFAS se sont engagés à cesser graduellement la production de PFOA, de ses précurseurs, et des acides perfluoroalkyle carboxyliques à chaîne longue (Accord de gérance sur le PFOA, 2010–2015) (« 2010/2015 PFOA Stewardship Program »).

La Directive Cadre sur l'Eau (DCE) de l'Union Européenne a également fixé des normes de qualité environnementales (NQE) pour le PFOS à 0,65 ng L⁻¹ dans les eaux de surface et à 9,1 µg kg⁻¹ de poids frais pour le biote (Règlement UE n°39/2013). Le Canada a fixé des normes pour le PFOS de 4,6 et 8,2 µg kg⁻¹ de poids frais (pour le poisson) pour la protection des oiseaux et des mammifères piscivores, et de 8300 µg kg⁻¹ de poids frais pour la protection des poissons proprement dits (Environnement Canada, 2013). Les Etats-Unis ont fixé des seuils provisoires pour l'eau potable à 200 et 400 ng L⁻¹ pour le PFOS et le PFOA, respectivement (US EPA, 2009).

Les efforts de réduction des émissions engagés à partir des années 2000 se reflètent dans les résultats de certaines études sur les tendances temporelles du PFOS et de ses dérivés chez les animaux aquatiques (**Figure 1.18**).

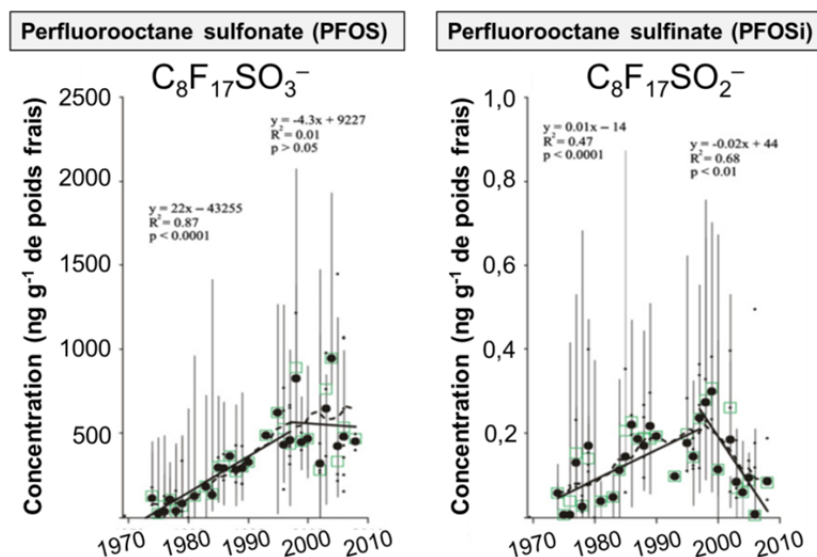


Figure 1.18. Illustration des tendances temporelles observées par Kratzer et al. (2011) pour le perfluorooctane sulfonate (PFOS) et le perfluorooctane sulfinat (PFOSi) ($ng\ g^{-1}$ de poids frais) dans des échantillons de tissus hépatiques de phoque gris (*Halichoerus grypus*) de mer Baltique entre 1974 et 2008. Les cercles noirs représentent la moyenne géométrique par année.

1.2.b. Analyse ultra-trace des PFAS

Les techniques de préparation d'échantillons environnementaux pour l'analyse de PFAS ont fait l'objet de nombreuses revues de synthèse, parmi lesquelles de Voogt et Sáez (2006), Villagrasa et al. (2006), van Leeuwen et de Boer (2007), Jahnke et Berger (2009) et Valsecchi et al. (2013). La quantification est dans la majorité des cas réalisée par dilution isotopique, les étalons internes pouvant être ajoutés aux échantillons au début ou à la fin de la procédure de préparation ; on préférera généralement ajouter les étalons internes en début afin de compenser les pertes qui pourraient survenir en cours de procédure (Ahrens, 2011). Dans le cas où les étalons internes sont ajoutés juste avant l'injection, il faudrait en toute rigueur diviser les concentrations obtenues par le rendement d'extraction. A noter que si les courbes d'étalonnage sont extraites (obtenues à partir d'extraits supplémentés en début de protocole avec les analytes), il n'est pas nécessaire d'opérer cette correction.

L'extraction des PFAS des matrices liquides a été proposée pour la première fois par Moody et Field (1999). Les échantillons d'eau souterraine ($\sim 0,05\text{--}0,2\ L$) étaient percolés à travers une résine échangeuse d'anions fortement basique (Field et Reed, 1996) permettant la récupération des PFCA ciblés. Les disques étaient placés dans des flacons avec de l'acétonitrile et de l'iodure de méthyle, le chauffage des vials à $80^\circ C$ pendant une heure permettant le transfert des analytes au solvant

organique et leur dérivation en perfluoroalkyle carboxylate de méthyle avant analyse par GC/EI-MS. Toutefois, un inconvénient majeur de cette méthode était le temps inhérent au conditionnement des disques (> 2 jours). Par la suite, Moody et al. (2001) ont développé une méthode pour l'extraction de PFCA et de PFSA dans l'eau de surface par extraction sur phase solide avec des cartouches C-18. Après chargement des échantillons (~ 0,2 L) et séchage des cartouches, l'élution est réalisée par un volume réduit de méthanol (2 mL) et les extraits sont analysés par LC/ESI-MS-MS. Noter l'amélioration d'un facteur ~4000 des limites de quantification avec la méthode de Moody et al. (2001) par rapport à celle décrite par Moody et Field (1999) (LOQ = 9 ng L⁻¹ et 36 µg L⁻¹ pour le PFOA, respectivement). La méthode de Taniyasu et al. (2005) a permis de couvrir une plus grande gamme de PFAS anioniques (y compris les PFAA à chaîne courte) grâce à l'emploi de cartouches échangeuses d'anions faibles (Oasis WAX). Cependant, ces cartouches sont vraisemblablement peu adaptées pour l'extraction des PFAS cationiques à chaîne courte. Backe et al. (2013) ont en partie contourné ce problème en procédant à l'injection directe de grands volumes d'échantillons aqueux sur des colonnes chromatographiques orthogonales, la détection étant réalisée en mode d'inversion rapide de polarité afin d'acquérir simultanément le signal des PFAS de diverses polarités (anioniques, zwitterioniques, cationiques). D'Agostino et Mabury (2014) ont rapporté l'emploi de cartouches de type résine échangeuse d'anion faible et résine échangeuse de cation faible afin d'examiner les différentes fractions de formulations de mousses extinctrices AFFF diluées en milieu aqueux.

L'extraction des PFAS des matrices sédiment implique généralement la solubilisation des analytes à l'aide d'un solvant organique tel que le méthanol, l'acétone, ou l'acétonitrile, ainsi qu'une étape de purification des extraits par SPE (ex : C-18) ou dispersion sur phase solide (ex : graphite) (van Leeuwen et de Boer, 2007). Nous proposons ci-après de détailler trois protocoles à titre d'exemple. Selon la méthode d'Higgins et al. (2005) développée pour l'analyse des PFAS anioniques dans les sédiments, les échantillons de sédiment, après décongélation et séchage à l'air, sont broyés au mortier et une étape de lavage à l'acide acétique est opérée. Les PFAS sont extraits dans un bain à ultrasons chauffé (60°C) avec un mélange 90:10 de méthanol et d'acide acétique à 1 % dans l'eau Milli-Q (alternance de plusieurs cycles d'extraction et de lavage acide). Les extraits recombinaés sont finalement purifiés par extraction sur phase solide (cartouche SPE C-18) avant analyse par LC/ESI-MS/MS. Ahrens et al. (2009b) ont proposé une version modifiée de la procédure de Powley et al. (2005) en utilisant 20 mL de méthanol (extraction assistée par agitation mécanique à 250 rpm pendant 30 min) après avoir humidifié le sédiment par 2 mL d'hydroxyde de sodium à 100 mmol L⁻¹ dans un mélange méthanol-eau 80:20 (v/v). Après centrifugation, la dispersion sur phase solide (graphite) permet de purifier les extraits, concentrés à 1 mL sous flux d'azote. Bertin et al. (2014) ont utilisé ~7,5 mL de méthanol (2 cycles consécutifs) pour extraire les PFAS des sédiments par ultrasons. A chaque cycle, une étape de centrifugation permet de séparer le surnageant de la matrice solide. Comme dans le cas d'Ahrens et al. (2009b), les étapes suivantes impliquent une purification sur phase solide (graphite), et une concentration sous flux d'azote (~ 40°C) à 400 µL avant analyse par LC/ESI-MS/MS.

Concernant les matrices biologiques, l'une des premières méthodes d'analyse spécifique des PFAS est celle de Belisle et Hagen (1980). Le transfert du PFOA de l'échantillon biologique aqueux (sang ou urine) ou solide (foie) vers un solvant organique était réalisé par extraction liquide-liquide avec un mélange hexane-éther (80:20) après addition d'acide chlorhydrique (HCl). Les limites de détection revendiquées par Belisle et Hagen (1980) sont de l'ordre de 60 ng g^{-1} et 15 ng mL^{-1} pour le PFOA dans le foie et le plasma, respectivement, malgré des prises d'essai conséquentes (5 g et 20 mL, respectivement). La méthode développée par Hansen et al. (2001) est basée sur une extraction par appariement d'ions avec le tétrabutyle d'ammonium, le méthyl tert-butyl éther (MTBE) faisant office de solvant d'extraction. Les extraits sont généralement évaporés à sec et reconstitués dans un solvant adapté pour l'analyse par LC/ESI-MS/MS. La méthode d'Hansen et al. (2001) combine des prises d'essai relativement faibles (1 g pour le foie et 0,5 mL pour le sérum) et des limites de détection adéquates pour les PFAS ciblés, de l'ordre de $2\text{--}9 \text{ ng g}^{-1}$ pour le foie et de $1\text{--}2 \text{ ng mL}^{-1}$ pour le sérum, une amélioration sensible par rapport à Belisle et Hagen (1980). Cette méthode a été largement reprise par la suite pour l'analyse des PFAS dans les matrices biologiques (ex : Bossi et al., 2005 ; Olivero-Verbel et al., 2006 ; Dietz et al., 2012). Outre la technique d'Hansen et al. (2001), les autres méthodes fréquemment rapportées dans la littérature pour l'extraction des PFAS des matrices biologiques solides incluent la digestion alcaline avec une base forte telle que l'hydroxyde de potassium (KOH) ou l'hydroxyde de sodium (NaOH) dans le méthanol (Taniyasu et al., 2005 ; Delinski et al., 2009 ; Kelly et al., 2009 ; Labadie et Chevreuil, 2011a) et l'extraction par ultrasons avec des solvants d'extraction tels que le méthanol (Bertin et al., 2014), l'acétonitrile (Gomez et al., 2011), ou un mélange méthanol-eau (Berger et Haukas, 2005). Une étape de purification suit généralement l'extraction, incluant des méthodes de dispersion sur phase solide (purification sur silice ou graphite), et des méthodes d'extraction sur phase solide hors ligne ou en ligne (Oasis HLB, C-18, résines échangeuse d'anions faible) (Valsecchi et al., 2013). Bertin et al. (2014) et Zabaleta et al. (2015) ont proposé des protocoles de purification impliquant à la fois une résine échangeuse d'anions faible et une purification sur graphite. L'extraction sur phase solide en ligne couplée à la LC/ESI-MS/MS a également été employée pour la détermination des PFAS dans le sang ou le plasma, moyennant généralement un simple prétraitement de l'échantillon avec du méthanol ou de l'acétonitrile afin de réaliser la séparation des protéines (Inoue et al., 2004 ; Kuklenyik et al., 2005 ; Haug et al., 2009 ; Gosetti et al., 2010 ; Mosch et al., 2010 ; Llorca et al., 2012). Selon la référence, les limites de détection des composés ciblés varient entre $0,002$ et $0,8 \text{ ng mL}^{-1}$. La prise d'essai de plasma requise pour ces méthodes de SPE en ligne couplée à la LC/ESI-MS/MS est de l'ordre de $0,1\text{--}0,3 \text{ mL}$, soit environ cent fois plus faible que la méthode décrite par Belisle et Hagen en 1980.

Les premières méthodes d'analyse de composés organofluorés étaient non-spécifiques, se basant sur la calcination de l'échantillon avant détermination du fluor total dans les cendres résultantes (Wickbold, 1954). La quantité de fluor déterminée sans calcination de l'échantillon (essentiellement fluor inorganique) peut être soustraite de la quantité de fluor déterminée après calcination afin d'en déduire le fluor organique total. La calcination entraîne la libération d'HF qui est piégé par du carbonate de sodium (Na_2CO_3) ; après solubilisation, les fluorures sont analysés soit par titrage colorimétrique en utilisant le réactif de thorium, soit par titrage potentiométrique avec une

électrode sélective au fluor (Taves, 1968). A noter que les analyses de fluor organique total que l'on rencontre dans la littérature récente sur les PFAS se basent globalement sur le même principe (calcination et piégeage de HF par une base forte), mais emploient la chromatographie à échange d'ions avec détecteur conductivimétrique pour l'analyse des fluorures (Loi et al., 2011 ; Yeung et al., 2013). Le système de chromatographie ionique est généralement couplé avec le système de combustion (CIC). Weiner et al. (2013) et D'Agostino et Mabury (2014) rapportent l'utilisation d'un spectromètre de masse à temps de vol (TOF) en couplage avec le système de CIC (TOF-CIC) comme étape préliminaire de criblage.

L'une des premières méthodes portant sur l'analyse spécifique de PFAS faisait intervenir la chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à capture d'électrons (GC-ECD) (Belisle et Hagen, 1980). La dérivation du PFOA en son ester méthylique avant l'étape d'analyse par GC-ECD était opérée par réaction avec le diazométhane ($\text{H}_2\text{C}-\text{N}^+\equiv\text{N}$). Actuellement, la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) est une méthode d'utilisation courante pour l'analyse des PFAS neutres relativement volatils tels que le perfluorooctane sulfonamide (FOSA) et ses dérivés (MeFOSA, EtFOSA, MeFOSE, EtFOSE) (**Figure 1.11**) ou les fluorotélomères alcools (X:2 FTOH) (**Figure 1.12**), l'ionisation étant généralement opérée par une source à ionisation chimique (Stock et al., 2010). La GC-MS peut également être appliquée à l'analyse des acides perfluoroalkyle carboxyliques (PFCA) après leur dérivation en ester méthylique avec un réactif tel que l'iodure de méthyle (Moody et Field, 1999) ou la 2,4-difluoroaniline (De Silva et Mabury, 2004).

Dans le sillage d'Hansen et al. (2001) ou de Giesy et Kannan (2001), la majorité des études environnementales sur les PFAS ont eu recours à la méthode d'analyse des PFAS par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem par une source d'ionisation électrospray (LC/ESI-MS/MS) (Villagrasa et al., 2006 ; Ahrens, 2011). Les colonnes les plus répandues pour effectuer la séparation chromatographiques sont celles de type C-18 (chromatographie en phase inverse, groupements octadécylsilanes) (Villagrasa et al., 2006). Certains auteurs tels que Benskin et al. (2007) ou Houde et al. (2008) ont fait appel à des supports de type octyle fluorés et pentafluorophényles, respectivement, afin d'améliorer la séparation des isomères de PFAS dans les matrices environnementales (**Figure 1.19**). Au sujet des phases mobiles, la majorité des références examinées par Villagrasa et al. (2006) utilisaient des mélanges eau-méthanol ou eau-acétonitrile, généralement en présence d'un sel d'acétate d'ammonium ($\text{CH}_3\text{COO}^-\text{NH}_4^+$) (1–20 mM). Les ions ammonium peuvent former des paires d'ions avec les PFAS anioniques, facilitant leur élution à travers la colonne et permettant également de conserver une bonne résolution chromatographique (Kadar, 2011). La technique d'ionisation par électrospray en mode négatif est l'interface la plus communément employée pour l'analyse des PFAS anioniques dans les matrices environnementales (Villagrasa et al., 2006).

Les réactions de fragmentation suivies en MS/MS pour les acides perfluoroalkyle sulfoniques (PFSA) impliquent généralement la réaction de formation du radical-anion $[\text{SO}_3^-]^\bullet$ ($M \rightarrow 79.9$) et de l'anion FSO_3^- ($M \rightarrow 98.9$) pour les transitions de quantification et de confirmation, respectivement (de Voogt et Sáez, 2006). Signalons toutefois que dans le cas des matrices biologiques, la transition

498.9 → 79.9 servant à la quantification du PFOS peut être interférée par un composé de masse nominale proche de celle du PFOS ($m/z = 498.3$) et pouvant former également $[\text{SO}_3]^-$ par réaction de fragmentation (Benskin et al., 2007 ; Houde et al., 2008 ; Kadar, 2011). Cet interférent a été identifié comme le taurodéoxycholate (TDCA) ou l'un de ses isomères, et une optimisation du gradient chromatographique permet une séparation chromatographique sans laquelle une interférence peut avoir lieu au niveau de la détection (transitions 498.3 → 79.9 et 498.9 → 79.9) (**Figure 1.19**), superposition qui pourrait survenir avec un spectromètre de résolution insuffisante pour les distinguer (Kadar et al., 2011a ; Labadie et Chevreuil, 2011a). Les transitions suivies pour les PFCA correspondent généralement à la perte de CO_2 depuis l'ion moléculaire et à la perte successive de fragments $-\text{CF}_2$ (**Figure 1.20**) (de Voogt et Sáez, 2006).

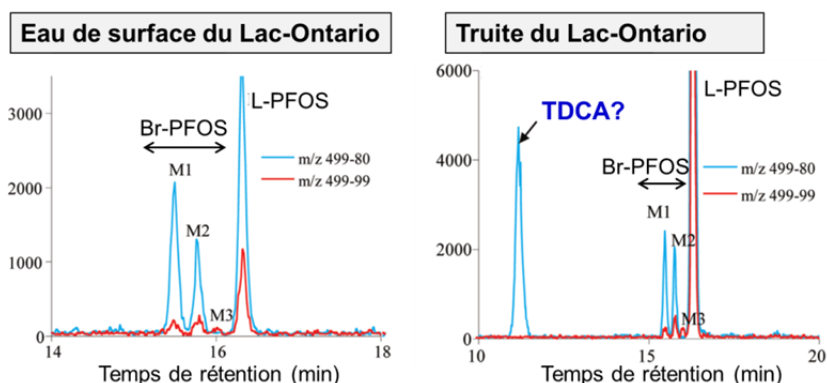


Figure 1.19. Chromatogrammes des transitions 499 → 80 et 499 → 99 observés dans un échantillon d'eau de surface (gauche) et de truite du Lac-Ontario (droite). Identification des isomères ramifiés du PFOS (Br-PFOS) et de l'isomère linéaire (L-PFOS), ainsi que d'un pic inconnu qui pourrait correspondre à l'acide taurodéoxycholique (TDCA) ou l'un de ses isomères. D'après Houde et al. (2008).

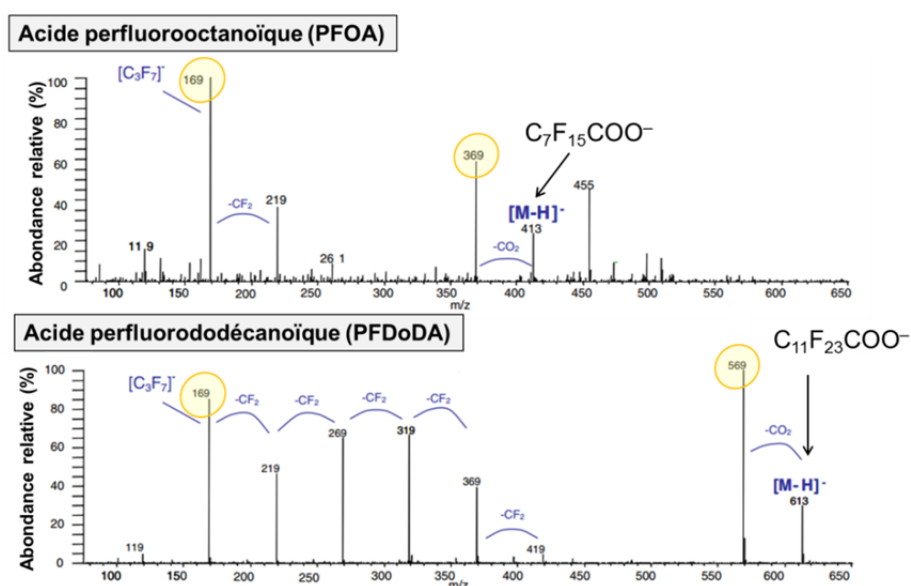


Figure 1.20. Spectre de fragmentation de l'acide perfluorooctanoïque (PFOA) et de l'acide dodécanoïque (PFDoDA) faisant apparaître les transitions principales $M \rightarrow 369$ et $M \rightarrow 569$ (perte de CO_2 à partir de l'ion moléculaire $[\text{M}-\text{H}]^+$) et $M \rightarrow 169$ (perte de CO_2 et de fragments $-\text{CF}_2$ pour conduire au fragment $[\text{C}_3\text{F}_7]^+$). D'après de Voogt et Sáez (2006).

Outre la séparation d'interférents de masse moléculaire proche des composés ciblés, la spectrométrie de masse haute résolution a permis ces dernières années l'identification de nouvelles familles de PFAS dans les matrices environnementales ou dans les formulations extinctrices de type AFFF (Place et Field, 2012 ; D'Agostino et Mabury, 2014 ; Liu et al., 2015 ; Ruan et al., 2015 ; Strynar et al., 2015).

De nombreux biais peuvent survenir durant les étapes de préparation ou d'analyse instrumentale, ainsi que l'ont noté Martin et al. (2004a), Ahrens (2011) ou Valsecchi et al. (2013) dans leurs revues de synthèse.

Concernant le prétraitement des échantillons aqueux, on mentionnera l'artefact de filtration possible lié à la rétention des PFAS dissous sur les filtres. Certaines études ont montré que cet artefact pouvait être minimisé par l'emploi de filtres adaptés ; à cet égard, les filtres GFF semblent plus compatibles avec l'analyse des PFAS que les filtres en Nylon ou en polyéther sulfone (Schultz et al., 2006 ; Labadie et Chevreuil, 2011b). La filtration des échantillons d'eau est donc généralement réalisée avec ce type de filtres. Toutefois, il a été estimé que la fraction de PFAS dissous retenue sur les filtres GFF représentait près de 30 % dans le cas des PFAS à longue chaîne perfluoroalkyle (PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTeDA, PFDS) (**Figure 1.21**), ce qui pourrait conduire à une surestimation des coefficients de partage eau-phase particulaire (K_D) pour ces composés (Labadie et Chevreuil, 2011b). Toutefois, ces tests ayant été réalisés dans l'eau ultra-pure sans matrice organique, il serait intéressant de répliquer cette expérience sur des matrices plus complexes (eaux de surface ou *a fortiori* effluents de STEP).

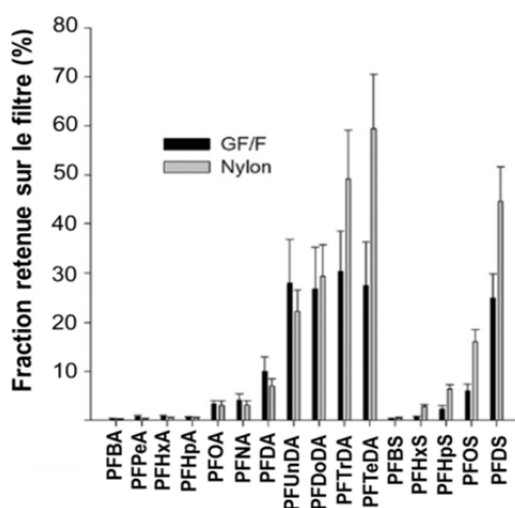


Figure 1.21. Artefact lié à la filtration (d'après Labadie et Chevreuil, 2011b). Rétention des PFAS sur les filtres en fibre de verre (GF/F) et nylon (eau ultra pure dopée à 10 ng L⁻¹ avec les analytes d'intérêt). Les barres d'erreur représentent l'écart-type (n = 3).

Dans leur synthèse de 2004, Martin et al. signalent que les pertes d'analytes peuvent survenir à toutes les étapes, depuis le prélèvement jusqu'à l'analyse. Bien qu'il n'y ait aucun consensus clair sur ce sujet, le verre est généralement évité lors de l'échantillonnage des matrices aqueuses en raison de l'adsorption probable des PFAS à la surface du matériel de prélèvement ; les bouteilles utilisées

pour l'échantillonnage sont généralement en polyéthylène ou en polypropylène (Stock et al., 2010). Les acides perfluoroalkyle carboxyliques (PFCA) et perfluoroalkyle sulfoniques (PFSA) sont persistants et résistants à la dégradation, et ne devraient pas subir de pertes notables dans des conditions normales de stockage. Cependant, les échantillons aqueux devraient être réfrigérés ou congelés afin d'éviter la dégradation de précurseurs tels que les fluorotélomères alcools (FTOH) (Cf. **Figure 1.12**) qui peuvent être dégradés en PFCA, ou les perfluoroalkyles sulfonamides et leurs dérivés (Cf. **Figure 1.11**) qui peuvent être dégradés en PFSA (Martin et al., 2004a). L'évaporation des extraits peut également être une étape critique conduisant à des pertes d'analytes en raison de l'augmentation du risque d'adsorption sur des constituants insolubles de la matrice, ou de la volatilisation de PFAS neutres tels que les dérivés de perfluoroalkyle sulfonamides (ex : MeFOSA, EtFOSA). Il est donc généralement recommandé d'éviter d'évaporer à sec les extraits (Villaverde-de-Saa et al., 2012 ; Valsecchi et al., 2013). Ahrens (2011) indique que même dans un solvant organique (méthanol, acétonitrile), l'adsorption des analytes à la paroi des flacons peut survenir sur le long terme. Un autre biais envisageable est la perte de carboxylates fluoroalkylés par réaction d'estérification avec le méthanol. Il semblerait donc préférable de limiter la période de stockage des extraits méthanoliques avant analyse instrumentale.

La contamination des blancs instrumentaux et des blancs de protocole est un autre problème récurrent lors de l'analyse des PFAS à niveau ultra-trace (Martin et al., 2004a ; Yamashita et al., 2004 ; Ahrens, 2011 ; Vestergren et al., 2012b). L'équipement de filtration peut être une source de contamination de PFAS (unité de filtration et/ou filtre). Par précaution, il est également important d'éviter tout contact de l'échantillon avec des matériaux à base de polymères fluorés, puisque les PFCA sont parfois utilisés comme auxiliaires lors de leur fabrication (ex : PFNA pour la synthèse de PVDF). Par exemple, les membranes (septa) utilisées pour sceller hermétiquement les vials servant au stockage des extraits peuvent être à base de polymères fluorés (Téflon, Viton) (Martin et al., 2004a). Lors de l'analyse instrumentale, une contribution non-négligeable de PFAS peut provenir de la chaîne chromatographique elle-même (contamination des phases mobiles ou relargage des tubulures). Une colonne de garde (« piège à PFAS ») peut être installée en amont du système d'injection afin de limiter la contamination liée à l'analyse instrumentale (Martin et al., 2004a ; Ahrens, 2011 ; Vestergren et al., 2012b). Une autre solution qui peut être envisagée afin de diminuer la contamination liée à la phase mobile aqueuse est de diminuer le temps d'équilibrage entre chaque injection (Martin et al., 2004a). Afin de limiter la contamination croisée liée à l'analyse de l'échantillon précédent, la seringue d'injection peut être rincée avec un solvant organique avant injection. L'analyse régulière de blancs de solvant en cours de séquence (par exemple, après analyse de points de contrôle contenant les standards à une concentration élevée) permet de contrôler la contamination résiduelle liée à l'analyse précédente (Martin et al., 2004a).

En l'espace d'une dizaine d'années, la pureté et la disponibilité des standards analytiques pour l'analyse des PFAS ont été considérablement améliorées (Ahrens, 2011). Des matériaux de référence sont disponibles pour le lait (NIST SRM 1954), le sérum (NIST SRM 1957 et SRM 1958), le plasma (NIST SRM 1950), et les tissus biologiques (muscle, foie) (NIST SRM 1946, SRM 1947, SRM

1577c et SRM 2974a). Des exercices internationaux inter-laboratoires ont été régulièrement organisés depuis 2005 afin de comparer les performances de quantification des différents participants (Z-scores) ou de fournir des valeurs de référence pour certaines matrices. A cet égard, on citera notamment les études de Van Leeuwen et al. (2006 et 2009), Reiner et al. (2012) ou Weiss et al. (2013). Pour un bref résumé de ces études, on se référera par exemple à la revue de synthèse de Valsecchi et al. (2013).

La suite de cette synthèse se focalise sur la persistance, la bioaccumulation et la toxicité des PFAS, des critères qui constituent l'une des pierres angulaires de l'approche actuelle d'évaluation des risques liés aux substances chimiques. Les propriétés physico-chimiques générales, l'écotoxicologie, et la persistance des PFAS y sont abordées. En parallèle, un aperçu des niveaux et profils de PFAS rencontrés dans les matrices environnementales est présenté, en mettant l'accent sur la littérature récente (2010–2015). Le degré d'exposition humaine aux PFAS y est également évoqué.

1.2.c. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques des composés organiques fortement fluorés découlent, premièrement, des propriétés intrinsèques du fluor (${}^9\text{F}$). En raison de sa densité électronique et d'un rayon atomique relativement faible (rayon de van der Waals $\sim 1,35\text{--}1,47\text{ \AA}$), le fluor est l'élément le plus électronégatif du tableau périodique ($\chi = 3,98$ selon l'échelle de Pauling, contre seulement 2,55 pour le carbone) (Krafft et Riess, 2015). L'écart considérable entre l'électronégativité du fluor et celle du carbone rend la liaison C–F fortement polarisée (asymétrie du nuage électronique en faveur de l'élément le plus électronégatif, en l'occurrence le fluor), ce qui en fait l'une des liaisons simples les plus fortes en chimie organique (Krafft et Riess, 2015). L'énergie de liaison C–F standard est de l'ordre de $\sim 485\text{ kJ mol}^{-1}$, supérieure à celle des liaisons C–H, C–N, C–O, C–S ou C–Cl (respectivement : 413, 308, 360, 330 et 272 kJ mol^{-1}). Au niveau des chaînes fluoroalkylées, l'augmentation du degré de substitution des atomes d'hydrogène par des atomes de fluor renforce les liaisons C–F (ex : $\sim 530\text{ kJ mol}^{-1}$ pour CF_3CF_3 Vs $\sim 450\text{ kJ mol}^{-1}$ pour $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{F}$). La liaison C–C est également renforcée par la présence d'atomes de fluor supplémentaires sur la chaîne alkyle (+ 34 kJ mol^{-1} pour le PTFE par rapport au polyéthylène) (Krafft et Riess, 2015). La possibilité d'addition nucléophile sur les atomes de carbone de la chaîne perfluoroalkylée est également réduite, dû à des effets stériques (les atomes de fluor étant plus encombrants que ceux d'hydrogène) et à des effets électrostatiques, les doublets non-liants des atomes de fluor agissant comme un bouclier empêchant l'approche du nucléophile (Stock et al., 2010 ; Krafft et Riess, 2015). Ces propriétés expliquent la grande stabilité des acides perfluoroalkylés (PFAA) en conditions environnementales « normales ». Par exemple, aucune dégradation significative du PFOS n'a été observée à l'échelle de 285 jours en conditions contrôlées à trois niveaux de concentration – exposition de zooplancton en microcosmes (Boudreau et al., 2003).

La densité électronique supérieure des atomes de fluor comparée à celle des atomes d'hydrogène explique que les chaînes perfluoroalkyles présentent peu d'interactions intermoléculaires par rapport aux chaînes hydrocarbonées ; cela explique aussi la volatilité relativement importante des

composés organofluorés par rapport à leurs analogues hydrocarbonés, malgré le plus faible poids moléculaire de ces derniers (Krafft et Riess, 2015). Dans leur synthèse de 2015, Krafft et Riess citent l'exemple du tensioactif polyfluoré 10:2 FTOH ($\text{CF}_3(\text{CF}_2)_7(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, masse molaire = 464 g mol^{-1}) dont la pression de vapeur est environ mille fois plus élevée que celle de son homologue aliphatique, le dodécanol ($\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{OH}$, masse molaire = 158 g mol^{-1}).

L'association d'un groupement polaire hydrophile (ex : acide, alcool, sulfonamide...) et d'une chaîne poly- ou perfluoroalkyle à la fois lipophobe et hydrophobe permet d'obtenir d'excellentes propriétés tensioactives. A titre d'exemple, le sel de perfluorooctanoate d'ammonium ($\text{C}_7\text{F}_{15}\text{COO}^- \text{NH}_4^+$) permet de réduire la tension de surface de l'eau de $\sim 72 \text{ mN m}^{-1}$ à $\sim 15 \text{ mN m}^{-1}$ (Kissa, 2001). D'excellentes performances peuvent être obtenues y compris à de très faibles concentrations. Des concentrations de PFAS de l'ordre de 50 à 150 ppm dans les peintures ou les vernis suffisent à réduire considérablement les gradients de tension de surface au sein du film de peinture ou de vernis au cours du séchage, permettant ainsi de limiter l'apparition de stries (Kissa, 1994). La grande résistance thermique et chimique des PFAS ainsi que leurs propriétés tensioactives en font des additifs de choix pour les formulations de mousses anti-incendie hautes performances (Cf. § 1.1.b).

Par ailleurs, les propriétés physico-chimiques des PFAS sont à relier à deux facteurs principaux : i) la longueur de la chaîne perfluoroalkyle (n_c : nombre d'atomes de carbone perfluoroalkylés) ; ii) la nature du groupement fonctionnel polaire. Ces facteurs conditionnent le devenir environnemental et l'écotoxicologie des PFAS.

Bien qu'il n'y ait pas de consensus sur la valeur des constantes d'acidité (K_a) des PFAS, quelques tendances générales se dégagent des différentes études sur le sujet (Brace, 1962 ; Brooke et al., 2004 ; Rayne et al., 2009a,b). Les acides perfluoroalkyle sulfoniques (PFSA) sont des acides forts ($\text{p}K_a$ du PFOS < 0) ainsi que les acides perfluoroalkyle carboxyliques (PFCA), dans une moindre mesure. Dans des conditions environnementales de pH ($\text{pH} \sim 6-8$), les acides perfluoroalkylés sont donc majoritairement sous leur forme déprotonée (anions). A noter qu'à partir d'une longueur de chaîne critique ($n_c = 4-5$), le $\text{p}K_a$ des PFCA augmente linéairement avec le nombre d'atomes de carbone de la chaîne perfluoroalkyle (Krafft et Riess, 2015). Dans le cas des PFCA à longue chaîne, une proportion non-négligeable des molécules pourrait donc être sous forme neutre à des pH environnementaux. La solubilité du perfluorooctane sulfonate (PFOS) dans l'eau à 25°C a été estimée à $\sim 0.5 \text{ g L}^{-1}$ (3M, 2000). Pour le perfluorooctanoate (PFOA), des valeurs environ dix fois supérieures à celles du PFOS ont été observées ($\sim 3-5 \text{ g L}^{-1}$) (Stock et al., 2010). Dans le cas des PFSA comme des PFCA, la solubilité en phase aqueuse peut diminuer drastiquement avec l'augmentation de la salinité (phénomène de « salting out ») (Jeon et al., 2010 ; Hong et al., 2013). Les composés neutres (ex : FTOH, perfluorooctane sulfonamide et dérivés N-alkylés) sont globalement plus volatils et moins hydrosolubles que les acides perfluoroalkylés. Ainsi la solubilité du 8:2 FTOH en phase aqueuse est-elle environ dix millions de fois inférieure à celle du perfluorodecanoate (PFDA) (Stock et al., 2010).

La constante de partage octanol-eau (K_{OW}) traditionnellement utilisée pour prédire le devenir environnemental (adsorption, bioaccumulation) des contaminants hydrophobes ne peut pas être déterminée expérimentalement pour les PFAS anioniques (ex : PFCA, PFSA), ce qui justifie la réalisation d'études *in situ* ou en conditions contrôlées de l'adsorption ou de la bioaccumulation. Les valeurs de $\text{Log } K_{OW}$ pour les PFAS neutres sont de l'ordre de 2,0–4,9 pour les FTOH, 4,1–4,4 pour le perfluorooctane sulfonamide (FOSA), 4,5–5,5 pour le N-éthyle perfluorooctane sulfonamide (EtFOSA) et ~ 5,4 pour le N-éthyle perfluorooctane sulfonamido éthanol (EtFOSE) (Arp et al., 2006 ; Stock et al., 2010). Le $\text{Log } K_{OW}$ augmente linéairement avec l'augmentation de la longueur de la chaîne perfluoroalkylée, par exemple dans le cas des fluorotélomères alcools (Figure 1.22).

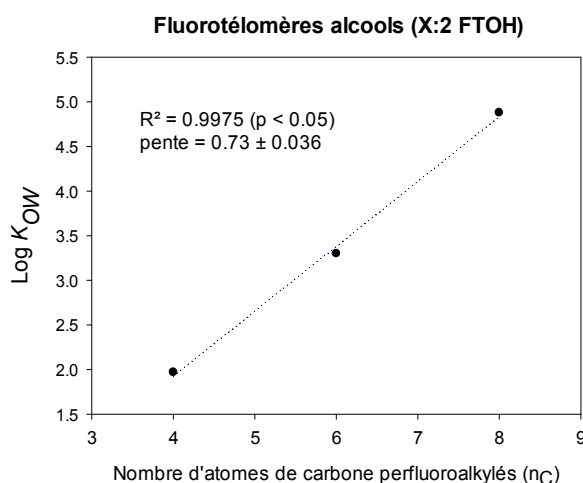


Figure 1.22. Evolution du coefficient de partage octanol-eau ($\text{Log } K_{OW}$) en fonction de la longueur de la chaîne perfluoroalkyle pour les fluorotélomères alcools (D'après Stock et al., 2010).

1.2.d. Occurrence dans les milieux eau et sédiment et facteurs de contrôle de leur distribution

Une synthèse des données d'occurrence dans les matrices aqueuses environnementales (couvrant la littérature jusqu'à ~2009–2010) a été présentée par Ahrens (2011). Les concentrations totales de PFAS typiquement observées dans les eaux de surface continentales (fleuves, rivières, lacs) sont généralement de l'ordre de quelques ng L^{-1} à quelques dizaines de ng L^{-1} , mais des valeurs supérieures au $\mu\text{g L}^{-1}$ peuvent être atteintes localement (**Tableau 1.1**). Les systèmes hydrographiques les plus exposés sont ceux à faible capacité de dilution (cours d'eau de faible débit) et/ou situés à proximité d'une source majeure de PFAS (usines de production de PFAS, bases militaires, aéroports). Etobicoke Creek, un affluent direct du lac Ontario, réunit ces deux conditions, à savoir un faible débit annuel ($\sim 3 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) (TRCA, 2010) et une proximité directe avec l'aéroport international Pearson de Toronto ; il n'est donc guère surprenant que ce site ait été l'objet de plusieurs épisodes de contamination par les PFAS. Par exemple, le 8 Juin 2000, un dysfonctionnement du système d'alarme incendie de l'aéroport a entraîné la dispersion de 22 000 L de mousses extinctrices AFFF (3M) qui ont fini par être évacuées dans le ruisseau voisin de Spring Creek. Deux jours après l'incident, des

concentrations dépassant les $2000 \mu\text{g L}^{-1}$ pour le PFOS et les $50 \mu\text{g L}^{-1}$ pour le PFHxS étaient mesurées à l'endroit où le ruisseau Etobicoke se jette dans le lac Ontario (Moody et al., 2002). Cinq mois plus tard, les concentrations de PFOS en phase dissoute étaient encore de l'ordre de $200\text{--}500 \text{ ng L}^{-1}$ (Moody et al., 2002). Le 2 Août 2005, un Airbus A340 d'Air France en approche finale de l'aéroport de Toronto manque son atterrissage et s'immobilise 200 m après la fin de la piste (06R), à proximité du ruisseau Etobicoke. Environ 48 000 L de mousses AFFF seront déployées sur le site de l'accident afin de contenir l'incendie. Les résultats d'Awad et al. (2011) semblent suggérer qu'à moyen-terme (1–4 ans) cet épisode a finalement eu peu d'influence sur les niveaux de PFOS en aval du site de l'accident, probablement en lien avec de nouveaux usages en matière de mousses extinctrices – le Canada ayant cessé ses importations de mousse AFFF à base de PFOS depuis 2002.

Les premières études à documenter l'occurrence et les niveaux de PFAS dans les eaux de surface à l'échelle paneuropéenne sont celles de Mc Lachlan et al. (2007) et Loos et al. (2009). Une concentration moyenne de PFOS de 39 ng L^{-1} a été observée dans les échantillons provenant de 122 fleuves et rivières d'Europe, et les fréquences de détection des sept PFAS ciblés varient de 26 % pour le PFUnDA à 97 % pour le PFOA (Loos et al., 2009). Les auteurs notent les niveaux particulièrement élevés du PFOA au niveau du Rhône (116 ng L^{-1}) ; cette domination des perfluoroalkyle carboxylates (PFCA) sera d'ailleurs confirmée par Dauchy et al. (2012) qui identifieront des activités industrielles voisines (usine de production de PVDF) comme l'une des explications potentielles de ce profil particulier. Par la suite, plusieurs études seront menées à l'échelle nationale ou régionale pour contribuer à une meilleure compréhension des sources de PFAS en Europe (ex : Ahrens et al., 2009d ; Clara et al., 2009 ; Kwadijck et al., 2010 ; Möller et al., 2010 ; Dufkova et al., 2012 ; Hloušková et al. 2014 ; Valsecchi et al., 2015). En Italie, une compilation de données couvrant un échantillonnage de 2008 à 2013 suggère que le PFOS ne participe qu'à hauteur de $\sim 6\%$ au flux total de $7,5 \text{ tonnes an}^{-1}$ d'acides perfluoroalkylés (PFAA) apportés à la mer par les cinq fleuves majeurs (Brenta, Po, Arno, Tibre et Adige) (Valsecchi et al., 2015). À l'inverse, une contribution écrasante est observée pour le PFBS ($\sim 40\%$), PFSA à chaîne courte ($n_c = 4$) synthétisé notamment par 3M en remplacement du PFOS, ainsi que pour le PFOA ($\sim 32\%$) et les PFCA à chaîne courte ($\sim 22\%$). Les observations de Valsecchi et al. (2015) confirment la tendance actuelle des industries manufacturières de PFAS à évoluer vers la production de composés à chaîne courte, censés être moins toxiques et bioaccumulables que leurs homologues à moyenne et longue chaîne perfluoroalkyle (Ahrens et Bundschuh, 2014). Ahrens et al. (2015) ont identifié des concentrations totales de PFAS relativement élevées à proximité de l'aéroport de Stockholm-Arlanda ($\Sigma\text{PFAS} = 146\text{--}344 \text{ ng L}^{-1}$). Les concentrations de 6:2 fluorotélomère sulfonate (6:2 FTSA) dépassent les 150 ng L^{-1} à proximité du centre d'entraînement anti-incendie, ce qui pourrait indiquer que ce tensioactif polyfluoroalkylé intervient dans la composition des mousses extinctrices AFFF, bien que la dégradation de précurseurs du 6:2 FTSA initialement présents dans ces formulations ne puisse être écartée (ex : Moe et al., 2012). À noter que pour le 6:2 FTSA, les deux premiers atomes de carbone suivant le groupement fonctionnel SO_3^- sont hydrogénés (au lieu d'être perfluoroalkylés comme dans le cas du PFOS) ; par conséquent, le 6:2 FTSA peut être dégradé/métabolisé en conditions environnementales pour former

principalement des PFCA à chaîne courte (ex : PFPeA, PFHxA) (Wang et al., 2011 ; Liu et Mejia-Avendaño, 2013).

Dans les eaux souterraines, les niveaux de PFAS sont relativement variables (**Tableau 1.1**). Au niveau des bases militaires impactées par l'utilisation de mousses AFFF, les concentrations totales de PFAS dépassent parfois le mg L^{-1} (Moody et Field, 1999 ; McGuire et al., 2014). Dans leur étude paneuropéenne de 2010 portant sur 164 échantillons d'eaux souterraines en Europe, Loos et al. ont relevé des concentrations maximales de 135 ng L^{-1} pour le PFOS, les autres composés ciblés restant sous la barre des 40 ng L^{-1} . Les fréquences de détection les plus élevées sont celles du PFOA (66 %), du PFOS (48 %), et du PFHxS (35 %). Les fréquences de détection indiquées par Boiteux et al. (2012) dans le cadre de leur étude en France métropolitaine ($n = 163$) sont relativement faibles ($< 19\%$) par rapport à celles de Loos et al. (2010), sans doute dû à des limites de détection plus hautes (4 ng L^{-1} Vs $0,3\text{--}0,4 \text{ ng L}^{-1}$). Récemment, Eschauzier et al. (2013) et Vierke et al. (2014) ont apporté des contributions importantes à la compréhension du transport des PFAA dans les aquifères, indiquant que les différences de mobilité entre PFAA sont probablement le fait de différences structurales (ex : longueur de chaîne). Outre les PFAA, les autres composés identifiés dans les eaux souterraines incluent certains de leurs précurseurs tels que le 6:2 FTSA ou le perfluorohexane sulfonamide (FHxSA) (Schultz et al., 2004 ; Backe et al., 2013 ; Houtz et al., 2013 ; McGuire et al., 2014) ainsi que des PFAS d'intérêt émergent de type anionique, zwitterionique ou cationique (Backe et al., 2013).

Le **Tableau 1.1** présente un aperçu des concentrations du PFOS et de la somme des PFAS (ΣPFAS) dans les eaux de surface continentales (rivières, lacs), les eaux souterraines et les eaux de stations d'épuration (période couverte : 2010 à 2015).

Les PFAS sont des contaminants ubiquistes des océans (Yamashita et al., 2004, 2005 et 2008 ; Wei et al., 2007 ; Ahrens et al., 2009a et 2010a ; Theobald et al., 2011 ; Zhao et al., 2012 ; González-Gaya et al., 2014). Le transport océanique joue probablement un rôle majeur dans la dispersion des PFAS à l'échelle globale (Yamashita et al., 2008). Les niveaux de PFAS les plus élevés sont généralement observés dans les zones côtières à proximité des sources anthropiques (ex : Taniyasu et al., 2003 ; So et al., 2004). Les concentrations de PFOS et de PFOA dans les zones littorales dépassent cependant rarement les 50 ng L^{-1} (Ahrens, 2011). En haute mer, les concentrations en phase dissoute restent généralement comprises entre quelques pg L^{-1} et quelques centaines de pg L^{-1} pour les composés individuels (Ahrens, 2011).

La campagne d'échantillonnage du Polarstern, conduite fin 2008 le long d'un gradient Nord-Sud de la mer du Nord à l'océan Austral, a révélé des niveaux totaux de PFAS (ΣPFAS) oscillant entre quelques pg L^{-1} et $\sim 1 \text{ ng L}^{-1}$ (Ahrens et al., 2010a). Les composés dominant le profil moléculaire sont généralement le PFOS, le PFOA, et les PFCA à chaîne courte (PFPeA, PFHxA) (Ahrens et al., 2010a).

Tableau 1.1. Aperçu des concentrations en phase dissoute de perfluorooctane sulfonate (PFOS total) et du total des PFAS ciblés (Σ PFAS) rapportées dans la littérature récente (2010–2015) pour les eaux douces de surface (rivières, lacs), les eaux souterraines, et les effluents de stations d'épuration (STEP) (ng L^{-1}). LOD : limite de détection ; LOQ : limite de quantification ; Moy = concentration moyenne ; NA : information non disponible.

Référence	Site d'étude	Nombre de PFAS étudiés	Gamme de concentrations de Σ PFAS (ng L^{-1})	Gamme de concentrations du PFOS (ng L^{-1})	LODs ou LOQs (ng L^{-1})
EAUX DE SURFACE					
Möller et al. 2010	Allemagne	40	0,35–621	0,25–19	LOQ = 0,036–1,6
Scott et al. 2010	Lac Siskiwit, Michigan, USA	23	NA	<LOQ–0,70	LOQ = 0,001–0,15
Esparza et al. 2011	Pays-Bas	5	NA	3,3–25	LOD = 0,05–2
Labadie et Chevreuil, 2011a	Orge (affluent de la Seine), France	15	Moy = 73	Moy = 17	LOQ = 0,06–0,41
Labadie et Chevreuil, 2011b	La Seine, Paris-centre, France	15	31–91*	9,9–40*	LOQ = 0,06–0,41
Li et al. 2011	Tianjin, Chine	9	12–174	1,2–73	LOD = 0,04–0,14
Cai et al. 2012	Ile du Roi George, Shetland, Antarctique	18	<LOQ–15	0,012–0,045	LOQ = 0,0088–0,13
de Solla et al. 2012	Aéroport d'Hamilton, Ontario, Canada	21	32,5–1038	13,6–850	LOQ = 0,25
Llorca et al. 2012	Allemagne et Espagne	21	<LOD–334	<LOQ–234	LOD = 0,35–11
Onghena et al. 2012	Espagne	18	<LOD–176	<LOD–171	LOD = 0,002–4
Wang et al. 2012	Chine	12	1,7–39	0,16–4,7	LOD = 0,2–2
Flores et al. 2013	Rivière Llobregat, Espagne	2	NA	<LOQ–11120	LOQ = 0,5–4,2
Gellrich et al. 2013	France, Grèce, Italie et République Tchèque	19	NA	<LOQ–6	LOQ = 1
Post et al. 2013	New Jersey, USA	10	<LOQ–174	<LOQ–43	LOQ = 5
Wang et al. 2013	Wuhan, Chine	8	8,6–568	<LOQ–89	LOQ = 0,6–8
Boone et al. 2014	Mississippi, USA	17	30 à 33	3,0–3,4	LOD = 0,032–0,6
Dinglasan-Panlilio et al. 2014	Colombie Britannique, Canada	14	1,5–40	0,2–5,8	LOQ = 0,1–0,5
Gallen et al. 2014	Brisbane, Australie	9	0,83–40	<LOQ–15	LOQ = 0,03–0,12
Lam et al. 2014	Corée du Sud	17	1,2–41	<LOD–15	LOD = 0,01–0,1
Pan et al. 2014	Yangtze, Chine	18	2,2–75	<LOD–3,9	LOD = 0,03–0,05

*Concentration totale dans la colonne d'eau (concentration en phase dissoute + concentration en phase particulaire).

Tableau 1.1. (Suite).

Référence	Site d'étude	Nombre de PFAS étudiés	Gamme de concentrations de ΣPFAS (ng L ⁻¹)	Gamme de concentrations du PFOS (ng L ⁻¹)	LODs ou LOQs (ng L ⁻¹)
Pan et al. 2014	Lac Tai, Chine	7	164–299	8,9–29	LOD ~ 1
Yao et al. 2014	Tianjin, Chine	20	~11–75	<LOQ–15	LOQ = 2–50
Ahrens et al. 2015	Aéroport de Stockholm-Arlanda, Suède	11	146–344	59–137	LOD = 0,01–0,1
Campo et al. 2015	Rivière Llobregat, Espagne	21	21,3–3130	0,01–2710	LOQ = 0,01–2
Castiglioni et al. 2015	Milan, Italie	12	14–889	<LOD–43	LOD = 0,2–5
Kwok et al. 2015	Svalbard, Norvège	17	NA	Moy ~ 0,3	LOQ = 0,005–0,025
Lindim et Cousins 2015	Danube, Autriche	2	NA	~ 2–30	NA
Liu et al. 2015	Lac Chaohu, Chine	17	2,5–40	<LOD–0,82	LOD = 0,01–0,13
Lu et al. 2015	Chine	17	2,1–146	<LOQ–2,8	LOQ = 0,07
Valsecchi et al. 2015	Italie	11	<LOD–8000	<LOD–150	LOQ = 1–20
EAUX SOUTERRAINES					
Loos et al. 2010	Europe	7	NA	<LOD–135	0,4
Boiteux et al., 2012	France métropolitaine	10	NA	<LOD–50	4
Backe et al. 2013	Bases militaires, USA	29	203–896200	88–78000	LOD = 0,71–67
Eschauzier et al. 2013	Pays-Bas	17	2,8–7,9	0,5–1,3	LOQ = 0,01–0,45
Post et al. 2013	New Jersey, USA	10	<LOD–138	<LOD–12	LOD ~ 5
Kuroda et al. 2014	Tokyo, Japon	13	<LOQ–1900	<LOQ–990	LOQ = 0,25–3,7
McGuire et al. 2014	Base militaire, USA	10	1300–1400000	<LOQ–47000	LOQ = 1–100
Yao et al. 2014	Tianjin, Chine	20	~ 1–102	<LOQ–33	LOQ = 2–50
Duong et al. 2015	Vietnam	16	<LOD–21	<LOD–8,2	LOD = 0,05–0,1
Filipovic et al. 2015	Stockholm, Suède	4	1,3–51000	<LOD–42200	LOD = 0,5–1
Lopez et al., 2015	France Métropolitaine	13	NA	NA	LOQ = 1–5
Xiao et al. 2015	Minnesota, USA	7	NA	<LOD–1600	NA

Tableau 1.1. (Suite).

Référence	Site d'étude	Nombre de PFAS étudiés	Gamme de concentrations de Σ PFAS (ng L ⁻¹)	Gamme de concentrations du PFOS (ng L ⁻¹)	LODs ou LOQs (ng L ⁻¹)
EAUX DE STEP*					
Guo et al. 2010	Corée	13	<LOD–629	<LOD–68	LOQ = 0,5–0,8
Ma et Shih 2010	Hong Kong, Chine	19	26–58,	19–50	LOD = 0,57–5,71
Lin et al. 2010	Taipei, Taiwan	10	335–9457	163–5663	LOQ = 0,1
Thompson et al. 2011	Queensland, Australie	19	22–138	2,2–39	LOD = 0,2–0,7
Llorca et al. 2012	Allemagne, Espagne	21	31–1661	<LOQ–501	LOD = 0,01–2,7
Xiao et al. 2012	Minnesota, USA	13	NA	NA	NA
Arvaniti et al. 2012	Athènes et Mytilène, Grèce	18	4,3–254	<LOD–26	LOD = 0,09–0,92
Sun et al. 2012	Tianjin, Chine	11	200–412	NA	LOD = 0,26–0,75
Chen et al. 2012	Shanghai, Guangzhou et Dalian, Chine	2	NA	1,1–176	LOD = 0,06–0,1
Zhang et al. 2013	Pékin, Shanghai, et Guangzhou, Chine	16	0,04–107	<LOD–32	LOQ = 0,1
Guerra et al. 2014	Canada	13	NA	2,0–905	NA
Campo et al. 2014	Espagne	21	Moy = 195–2157	Moy = 77–118	LOQ = 0,01–2
Castiglioni et al. 2015	Milan, Italie	12	15–1128	<LOD–17	LOD = 0,5–5
Chirikona et al. 2015	Bassin du Lac Victoria, Kenya	13	29–77	0,9–9,8	NA
Zhang et al. 2015	Shanghai, Chine	14	250–2452	24–85	NA

*STEP : station de traitement des eaux usées.

L'expédition du Malaspina (2010) a révélé des concentrations totales en PFAS du même ordre de grandeur avec des concentrations maximales en PFAS généralement inférieures à 2 ng L^{-1} sauf exception ($\sim 11 \text{ ng L}^{-1}$ au large du Brésil) (González-Gaya et al., 2014). L'examen des cartes suggère une différenciation marquée entre hémisphères Nord et Sud concernant les profils d'acides perfluoroalkylés (PFAA) (**Figure 1.23**). Ainsi la contribution des PFAA à chaîne courte ou moyenne au profil moléculaire est-elle relativement importante dans les océans Pacifique Nord (PFHxS, PFHxA) et Atlantique Nord (PFBS, PFOA). A l'inverse, les contributions du PFOS et du perfluorodecanoate (PFDA) semblaient relativement élevées pour les sites échantillonnés dans l'Océan Atlantique Sud (**Figure 1.23**) (González-Gaya et al., 2014).

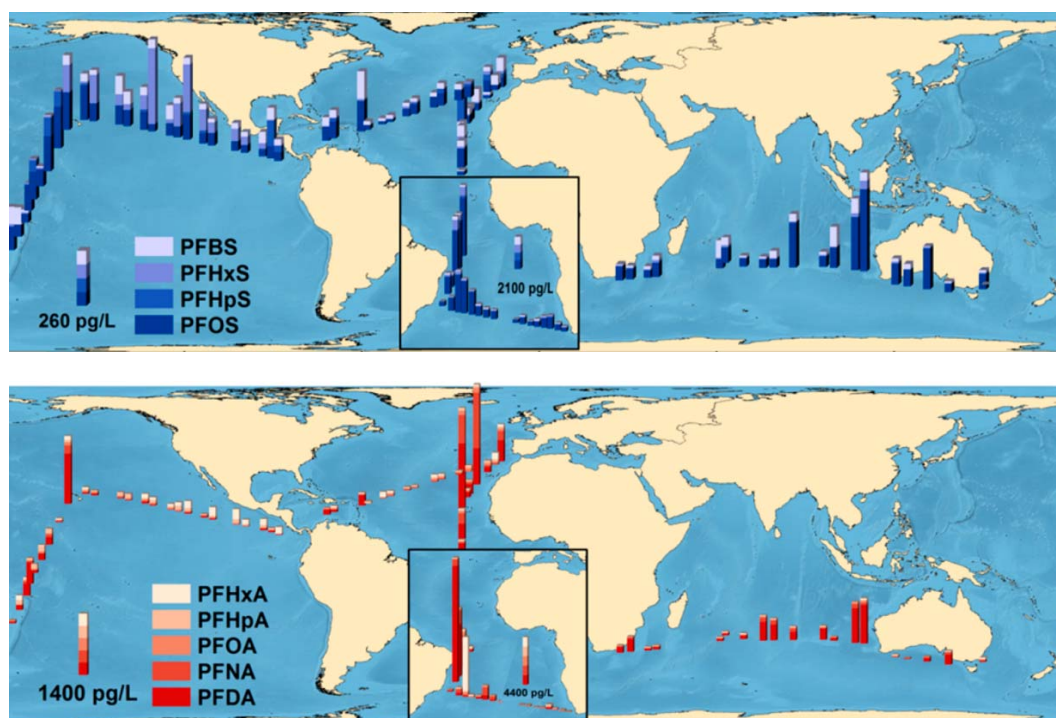


Figure 1.23. Concentrations en acides perfluoroalkyle sulfoniques (PFBS, PFHxS, PFHpS, PFOS) et en acides perfluoroalkyle carboxyliques (PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA) dans les océans, mesurées lors de l'expédition Malaspina de 2010. Noter le changement d'échelle pour la zone centrale de l'océan Atlantique Sud. D'après González-Gaya et al. (2014).

Dans les sédiments, les valeurs maximales de ΣPFAS ne dépassent généralement pas quelques dizaines de ng g^{-1} de poids sec. En revanche, la ΣPFAS peut atteindre quelques milliers de ng g^{-1} de poids sec dans les effluents solides de stations d'épuration (boues de STEP) (**Tableau 1.2**). Kwadijk et al. (2010) et Hloušková et al. (2014) ont relevé des concentrations de PFOS autour de 0,5–8,7 et 0,2–17,7 ng g^{-1} de poids sec dans des échantillons de sédiments des Pays-Bas et de République Tchèque, respectivement. Si en phase dissoute le L-PFOS et les isomères ramifiés du PFOS (Br-PFOS) sont ordinairement retrouvés en proportions égales, en revanche, le L-PFOS est l'isomère majoritaire dans le sédiment ($\sim 90 \%$ du PFOS total), ce qui reflète son caractère hydrophobe plus marqué (Houde et al., 2008). Les PFAS prépondérants en termes de concentrations dans les sédiments sont généralement le PFOS et les PFCA à longue chaîne perfluoroalkyle ($n_c = 9\text{--}13$), en lien avec leur K_{OC} plus élevé (ex : Labadie et Chevreuil, 2011a). Des dérivés de perfluorooctane sulfonamide (MeFOSAA, EtFOSAA, SAmPAP) sont également détectés de façon occasionnelle dans les sédiments (ex : Benskin et al., 2012).

Tableau 1.2. Aperçu des concentrations de perfluorooctane sulfonate (PFOS total) et du total des PFAS ciblés (Σ PFAS) rapportées dans la littérature récente (2010–2015) pour les sédiments et matières en suspension en milieu naturel, ainsi que pour les boues de stations d'épuration (STEP) (ng g^{-1} de poids sec). LOD : limite de détection ; LOQ : limite de quantification ; Moy = concentration moyenne. NA : information non disponible.

Référence	Site d'étude	Nombre de PFAS étudiés	Gamme de concentrations de Σ PFAS (ng g^{-1})	Gamme de concentrations du PFOS (ng g^{-1})	LODs ou LOQs (ng g^{-1})
SEDIMENTS					
Ahrens et al. 2010b	Baie de Tokyo, Japon	20	0,29–0,36	NA	LOQ = 0,13–0,33
Ma et Shih, 2010	Hong Kong	19	5,3–78	2,6–31	LOD = 0,03–0,29
Ahrens et al. 2011	Baie de Tokyo, Japon	3	0,094–0,44	0,028–0,29	NA
Esparza et al. 2011	Pays-Bas	5	NA	0,07–1,9	LOD = 0,01–0,5
Gómez et al. 2011	Mer de Cantabrie, côtes espagnoles	5	<LOD–0,13	<LOD–0,13	NA
Labadie et Chevreuil, 2011a	Orge (affluent de la Seine), France	15	Moy = 8,4	Moy = 4,3	LOQ = 0,04–0,33
Li et al. 2011	Tianjin, Chine	9	1,6–16	0,09–7,3	LOD = 0,04–0,14
Myers et al. 2012	Lac Ontario, Canada	11	2,1–19 (PFCA)	4,4–49	LOD = 0,05–0,2
Yang et al. 2011	Rivière Liao et Lac Tai, Chine	10	0,20–1,3	0,04–0,48	LOD = 0,01–0,02
Corsolini et al. 2012	Gange, Inde	2	<LOD–14	<LOD	LOD = 0,5
Beškoski et al. 2013	Serbie	15	0,56–6,3	0,29–5,7	LOD = 0,02–0,04
Perra et al. 2013	Parco Nazionale Arcipelago Toscano, Italie	2	NA	0,25–1,5	LOD = 0,1
Xu et al. 2013	Lac Dianchi, Chine	10	0,21–2,5	Moy = 0,33	NA
Zhang et al. 2012	Lac Dianchi, Chine	10	0,95	0,07–0,83	LOD = 0,01–0,029
Yeung et al. 2013	Lac Ontario, Canada	14	1,1–76	0,49–30	LOQ = 0,05–0,125
Zhao et al. 2013	Baie de Laizhou et rivières adjacentes, Chine	16	0,01–87	0,02–1,6	LOD = 0,01–0,33

Tableau 1.2. (Suite)

Référence	Site d'étude	Nombre de PFAS étudiés	Gamme de concentrations de Σ PFAS (ng g ⁻¹)	Gamme de concentrations du PFOS (ng g ⁻¹)	LODs ou LOQs (ng g ⁻¹)
Gao et al. 2014	côtes chinoises (mer de Bohai)	9	<LOD–3,0	<LOD–0,89	LOD = 0,005–0,04
Hloušková et al. 2014	République Tchèque	25	0,41–26	0,16–18	LOD = 0,03–0,3
Lam et al. 2014	Corée du Sud	17	0,03–1,1	0,01–0,48	LOD = 0,01–0,02
Llorca et al. 2014	Grèce	18	<LOQ–0,19	<LOQ–0,03	LOD = 0,0004–0,15
Meng et al. 2014	Haihe, Chine	12	0,06–0,46	<LOD–0,1	LOD = 0,01–0,1
Pan et al. 2014	Yangtze, Chine	18	0,05 à 1,4	<LOD–0,59	LOD = 0,003–0,03
Zhao et al. 2014	Haihe, Chine	6	0,52–16	0,29–7,3	LOQ = 0,01–0,03
Zhu et al. 2014	côtes chinoises (Bohai)	17	0,17–2,0	0,027–0,44	LOD = 0,002–0,02
Campo et al. 2015	Rivière Llobregat, Espagne	21	8,4–38	0,15–11	LOQ = 0,04–8
Qi et al. 2015	Lac Chaohu, Chine	17	0,72–19	0,24–0,67	NA
White et al. 2015	Charleston, Caroline du Sud, USA	11	0,22–19	0,09–7,4	LOQ = 0,019–0,027
Zhao et al. 2015b	Deutsche Bucht, Allemagne	16	0,056–7,5	0,023–5,4	LOD = 0,001–0,11
MATIERES EN SUSPENSION					
Ahrens et al. 2010b	Baie de Tokyo, Japon	20	6,4–15	NA	LOQ = 0,13–0,33
Labadie et Chevreuil, 2011b	Seine, Paris-centre, France	15	NA*	NA*	NA*
Hong et al. 2013	Estuaires du Youngsan et du Nakdong, Corée du Sud	13	0,082–1,1	<LOD–0,36	LOD = 0,0005–0,005
Chen et al. 2015	Rivière Liao et Lac Tai, Chine	14	4,6–326	0,24–96	NA
Liu et al. 2015	Delta de la rivière des Perles, Chine	16	NA	NA	LOD = 0,004–0,95

*Cf. **Tableau 1.1** : Concentration totale dans la colonne d'eau (concentration en phase dissoute + concentration en phase particulaire).

Tableau 1.2. (Suite)

Référence	Site d'étude	Nombre de PFAS étudiés	Gamme de concentrations de ΣPFAS (ng g ⁻¹)	Gamme de concentrations du PFOS (ng g ⁻¹)	LODs ou LOQs (ng g ⁻¹)
BOUES DE STEP*					
Guo et al. 2010	Corée	13	<LOD–59	<LOD–54	LOQ = 1–5
Ma et Shih 2010	Hong Kong, Chine	19	20–7467	3,1–7305	LOD = 0,14–1,43
Xiao et al. 2012	Minnesota , USA	13	NA	NA	NA
Arvaniti et al. 2012	Athènes et Mytilène, Grèce	18	0,58–233	0,58–17	LOD = 0,04–0,46
Sun et al. 2012	Tianjin, Chine	11	107–194	42–169	LOD = 0,12–0,48
Venkatesan et Halden, 2012	USA	13	NA	308–618	LOD = 0,03–0,14
Chen et al. 2012	Shanghai, Guangzhou et Dalian, Chine	2	NA	0,5–20	LOD = 0,09–0,1
Yan et al. 2012	Shanghai, Chine	14	126–809	28–139	NA
Zhang et al. 2013	Beijing, Shanghai, et Guangzhou, Chine	16	6,8–67	0,8–23	LOQ = 0,010
Zhang et al. 2013	Shanghai, Chine	15	NA	NA	NA
Beškoski et al. 2013	Serbie	15	0,59–6,3	0,29 à 5,7	LOD = 0,02–0,04
Guerra et al. 2014	Canada	13	NA	2,9–22	NA
Campo et al. 2014	Espagne	21	Moy = 503–920	0,01–1790	LOQ = 0,04–8
Chirikona et al. 2015	Kenya	13	0,15–1,7	0,12–0,67	LOD = 0,0001–0,11
Zhang et al. 2015	Shanghai, Chine	14	75–126	37–39	NA

*STEP : station de traitement des eaux usées.

L'adsorption des PFAS a été documentée en conditions contrôlées (expériences en laboratoire) sur des supports modèles ou naturels, ainsi que dans l'environnement avec la détermination *in situ* du coefficient de partage eau-sédiment ou eau-matières en suspension (eau-MES). Le K_D se définit par la concentration des PFAS dans le sédiment ou dans les MES (en ng kg^{-1}) divisée par la concentration des PFAS en phase dissoute (en ng L^{-1}). Le K_D est souvent normalisé par la fraction de carbone organique dans le sédiment (f_{OC}) ou, moins fréquemment, par une grandeur reflétant la granulométrie du sédiment (ex : pourcentage massique d'argiles). De manière générale, les coefficients de partage de type K_D ou K_{OC} augmentent avec la longueur de la chaîne perfluoroalkyle (Ahrens et al., 2010b ; Labadie et Chevreuil, 2011a). Dans une étude sur l'Orge (affluent de la Seine), Labadie et Chevreuil (2011a) ont observé une augmentation linéaire du $\text{Log } K_D$ de ~ 0.9 unité log pour chaque $-\text{CF}_2$ supplémentaire du PFNA au PFDoDA (**Figure 1.24**). A noter que pour les PFCA à chaîne plus courte ($n_C < 7$), une déviation est observée par rapport à cette tendance linéaire et le $\text{Log } K_D$ évolue peu avec la longueur de la chaîne ($\text{Log } K_D = 2,1$). Ceci a été récemment confirmé par une étude en laboratoire pour le PFBA et le PFPeA (Guelfo et Higgins, 2013). Higgins et Luthy (2006) ont observé que le K_{OC} des perfluoroalkyle sulfonates (PFSA) était environ 1,7 fois plus grand en moyenne que celui de leur analogue carboxylate (PFCA) de même longueur de chaîne perfluoroalkyle.

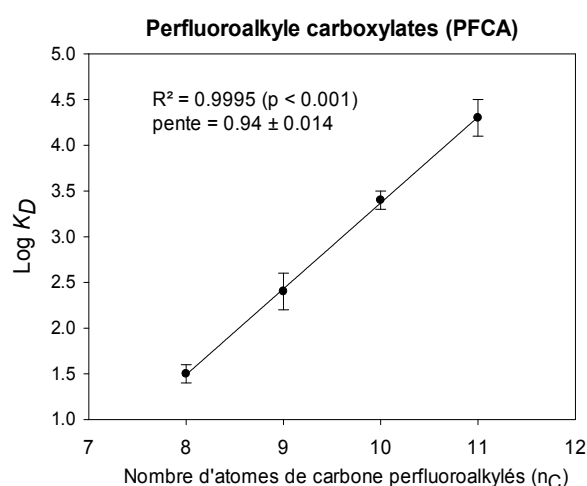


Figure 1.24. Evolution du $\text{Log } K_D$ (eau-sédiment) en fonction de la longueur de la chaîne perfluoroalkyle pour les PFCA du PFNA au PFDoDA. Adapté de Labadie et Chevreuil (2011a). Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type.

Outre les caractéristiques intrinsèques aux PFAS, un nombre important de facteurs environnementaux peuvent avoir un effet sur le K_D , incluant des facteurs spécifiques à la phase aqueuse tels que le pH, la concentration en cations divalents, la salinité, ou la matière organique dissoute (ex : Higgins et Luthy, 2006 ; Jeon et al., 2011 ; Hong et al., 2013), et des facteurs spécifiques au sédiment telles que la teneur en carbone organique ou la granulométrie (ex : Higgins et Luthy, 2006 ; Ahrens et al., 2009b et 2010b ; Kwadjick et al., 2010). Ainsi, on corrige souvent le K_D par le taux de carbone organique du sédiment ($K_{OC} = K_D \times 100 / f_{OC}$).

La **Figure 1.25** ci-après donne un exemple des valeurs de $\text{Log } K_{OC}$ du PFOA et du PFOS pouvant être rencontrées dans la littérature. Une valeur moyenne de $\text{Log } K_{OC} = 3,0$ a été proposée pour le PFOS dans une revue de synthèse de Zareitalabad et al. (2013). Même si les PFAS anioniques sont des composés relativement hydrophiles, la forte affinité des PFAA à longue chaîne perfluoroalkyle pour la phase particulaire implique que, dans la colonne d'eau, une proportion importante de ces composés peut se retrouver adsorbée aux matières en suspension. Aussi, en dépit des faibles turbidités relevées par Ahrens et al. (2010b) dans la Baie de Tokyo ($\text{MES} = 3\text{--}5 \text{ mg L}^{-1}$), les proportions de PFOS et de perfluoroundecanoate (PFUnDA) en phase particulaire pour un volume d'eau fixé y ont été estimées à $32 \pm 2,2$ et $62 \pm 6,2 \%$, respectivement, alors que des acides perfluoroalkylés à chaîne plus courte tels que le PFHxS, le PFHpA ou le PFOA sont majoritairement présents en phase dissoute (95–99 % en moyenne) (Ahrens et al., 2010b).

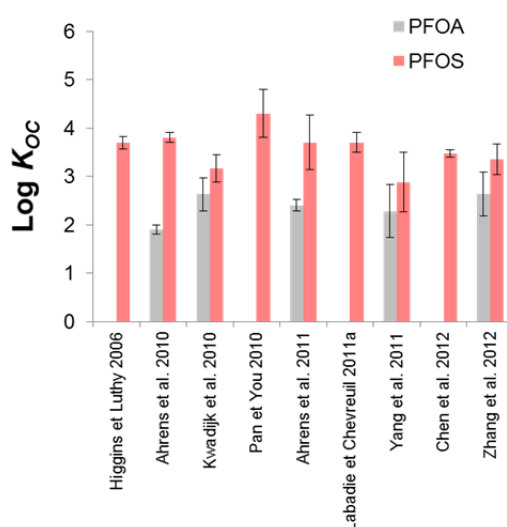


Figure 1.25. Aperçu des valeurs environnementales de $\text{Log } K_{OC}$ (eau-sédiment) rapportées dans la littérature pour le PFOA et le PFOS. Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type.

1.2.e. Toxicité, toxico-cinétique, bioconcentration et organotropisme

L'écotoxicologie des PFAS a fait l'objet de nombreux articles de synthèse, notamment par 3M (Seacat et al., 2002 ; 3M, 2003 ; Olsen et al., 2009), DuPont (Kennedy et al., 2004), OCDE (2002), Hekster et al. (2003), Lau et al. (2004 et 2007), Andersen et al. (2008), Giesy et al. (2010), Stock et al. (2010), Lau (2012) et Ahrens et Bundschuh (2014).

Historiquement, les premières études de toxicité sur les PFAS (1980–1990) ont essentiellement ciblé le PFOA (ou ses sels, notamment le perfluorooctanoate d'ammonium, APFO), suite à l'élucidation de sa structure et à sa détection dans le sang humain (Cf. § 1.2.b). Concernant le PFOS, il faudra attendre la décennie suivante pour voir apparaître les premières publications (toxicité sur des rongeurs) (Haughom et Spydevold, 1992 ; Sohlenius et al., 1993). Le degré d'imprégnation par le PFOS de travailleurs exposés par leur activité professionnelle ne sera révélé qu'à la fin des

années 1990 (Olsen et al., 1999), les techniques analytiques utilisées jusque-là pour l'analyse du PFOA ne pouvant être transposées au PFOS.

Les études de toxico-cinétique du PFOS et du PFOA révèlent que ces composés sont fortement retenus (taux d'assimilation) lors d'une exposition par voie orale ; après ingestion, ces composés ne sont pas métabolisés et sont relativement mal éliminés par l'organisme (Lau et al., 2007). Le temps de demi-vie ($t_{1/2}$) du PFOS dans le sang a été estimé à ~ 3 mois chez le rat et à ~ 5 ans chez l'homme (Johnson et al., 1979 ; Olsen et al., 2007). De manière générale, les PFAA à courte chaîne perfluoroalkylée tels que le PFBA ($n_C = 3$) ou le PFBS ($n_C = 4$) sont plus rapidement éliminés que leurs homologues à plus longue chaîne. Les isomères ramifiés de PFAA ont généralement des cinétiques d'élimination plus rapides que leurs homologues linéaires (ex : Benskin et al., 2009). Par ailleurs, les PFSA ont montré des $t_{1/2}$ supérieurs à ceux des PFCA de longueur de chaîne équivalente. A titre indicatif, les PFAA se classent dans l'ordre suivant chez les primates en termes de temps de demi-vie plasmatique : PFOS ($t_{1/2}$ dans le sang ~ 5 mois) ~ PFHxS (~ 3–4 mois) > PFOA (~ 1 mois) > PFBS (~ 4 jours) > PFBA (~ 2 jours) (Lau et al., 2007).

Au chapitre des effets toxiques pouvant être occasionnés par les PFAS, on notera notamment l'hépatotoxicité, l'immunotoxicité et ainsi que des altérations du développement (Lau et al., 2007 ; Lau et al., 2012). Les PFAS peuvent générer des interférences dans la communication intercellulaire par jonction lacunaire (« GJIC : gap junctional intercellular communication »), procédé qui intervient au niveau de l'espace de quelques nanomètres séparant les membranes plasmatiques de cellules adjacentes et qui est important pour les échanges intercellulaires (ex : ions, molécules), leur différenciation, et le maintien de l'homéostasie des tissus (Lau et al., 2007). Par exemple, Hu et al. (2002) ont étudié l'influence de composés perfluoroalkylés sur la communication intercellulaire par jonction lacunaire pour des lignées cellulaires épithéliales de foie de rat (WBF344) et de dauphin (CDK). Pour le PFOS, le FOSA et le PFHxA, une inhibition rapide (mais réversible) de la communication intercellulaire a été observée, tandis que le perfluorobutane sulfonate (PFBS) n'a pas montré d'effet significatif sur cette dernière, du moins dans la gamme de concentrations testées (Hu et al., 2002). Parmi les autres mécanismes d'action toxique envisagés, figurent l'altération de la dynamique bioénergétique des mitochondries, ainsi que l'interaction avec des récepteurs nucléaires tels que ceux activés par les proliférateurs de peroxyosomes (« PPAR = peroxisome proliferator-activated receptor ») (Stock et al., 2010 ; Lau et al., 2012). Certains acides perfluoroalkylés (PFAA) tels que le PFOS, le PFOA, le PFNA et le PFDA ont été identifiés comme des agonistes des PPAR d'isotype α , qui sont notamment exprimés au niveau du foie (métabolisme des lipides), et peuvent ainsi provoquer une augmentation de l'oxydation des acides gras, se traduisant par une accumulation de lipides dans les tissus hépatiques (Stock et al., 2010). Récemment, Wolf et al. (2012) ont observé que le potentiel d'activation des PPAR α par les PFAA augmentait en fonction de la longueur de la chaîne perfluoroalkyle pour les PFAA de courte à moyenne longueur de chaîne, le plus fort activateur de peroxyosome étant le PFNA (tests *in vitro* chez la souris et chez l'homme). Ces résultats suggèrent également que les PFAA à longue chaîne (ex : PFDoDA) sont comparativement des agonistes moins puissants des PPAR α par rapport aux PFAA de moyenne longueur de chaîne (Wolf et al., 2012).

La toxicité aiguë et la toxicité subchronique du PFOS (ou de ses sels) ont été étudiées chez les organismes aquatiques, les rongeurs et les primates (Renner, 2001 ; Giesy et al., 2010).

La CL₅₀ du PFOS (à 96h), concentration létale entraînant la mortalité de 50 % des individus d'une population d'organismes aquatiques au bout de quatre jours d'exposition, a été estimée à ~ 60 mg L⁻¹ chez la moule d'eau douce *Unio complanatus*, ~ 15 mg L⁻¹ chez le dactylère du Cap *Xenopus laevis* (crapaud d'Afrique du Sud), ~ 22 mg L⁻¹ chez la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*, et ~ 5 mg L⁻¹ chez le vairon à grosse tête *Pimephales promelas* (synthèse de données toxicologiques de l'OCDE, 2002 ; synthèse de Giesy et al., 2010).

La DL₅₀ du PFOS, dose létale entraînant la mortalité de 50 % des individus d'une population exposée, a été estimée à ~ 250 mg kg⁻¹ chez le rat (OCDE, 2002). Olsen et Andersen (1983) ont évalué une DL₅₀ similaire pour le PFOA chez le rat (~ 190 mg kg⁻¹), alors que celle estimée pour le PFDA était sensiblement plus faible (~ 40 mg kg⁻¹), traduisant une plus grande toxicité aiguë de ce dernier. Ces estimations placent les PFAA à moyenne et longue chaîne dans la fourchette des contaminants modérément toxiques selon la classification de Lauwerys et al. (2007) (**Figure 1.26**).

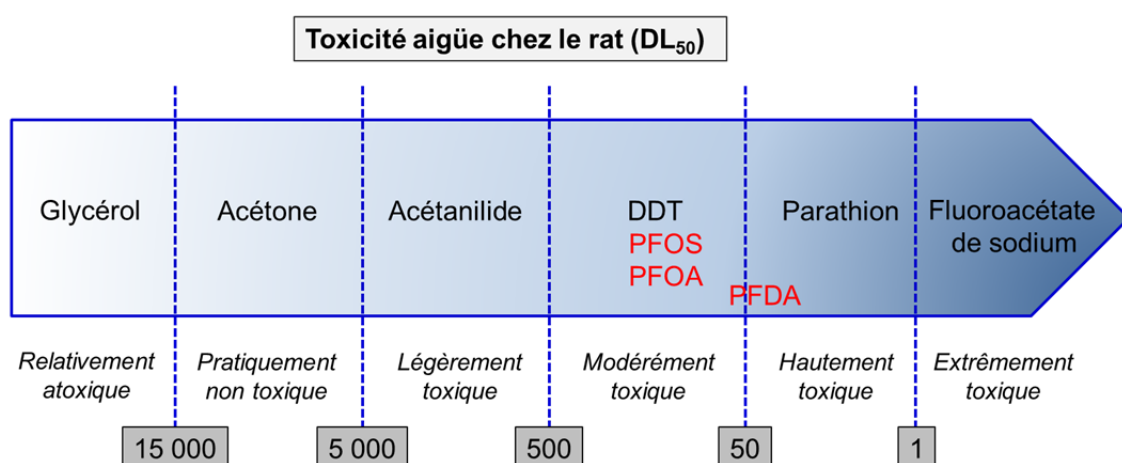


Figure 1.26. Positionnement du PFOS, du PFOA et du PFDA dans l'échelle de toxicité aiguë des produits chimiques (exposition par voie orale unique chez le rat) selon la dose létale entraînant 50 % de mortalité chez les individus exposés (DL₅₀, en mg de produit par kg⁻¹ de poids corporel). D'après Jean-Claude Amiard (UVED Nantes), Olson et Andersen (1983), OCDE (2002) et Lauwerys et al. (2007).

L'exposition subchronique d'individus adultes au PFOS ou au PFOA peut entraîner une perte de poids significative et un phénomène d'hépatomégalie (augmentation du volume du foie) (Lau et al., 2007). A noter que l'hépatomégalie a également été mise en évidence pour des PFAA à chaîne courte tels que le PFBA ou le PFBS lors d'études de toxicité subchronique chez le rat (Lau et al., 2007). Des effets de type perturbation endocrinienne ont été mis en évidence *in vivo* (ex : retard de maturation sexuelle) (Lau et al., 2007). Lau et al. (2003) ont exposé des rates gestantes à des concentrations croissantes de PFOS afin d'évaluer l'influence de ces traitements sur la survie des nouveau-nés. Dans cette étude, 100 % des ratons dont les mères ont été exposées à > 10 mg kg⁻¹ de PFOS

meurent quelques heures après la naissance, et 95 % des ratons dont les mères ont été exposées à 5 mg kg⁻¹ meurent au cours du premier jour de vie post-natale (Lau et al., 2003). Chez les ratons dont les mères ont été exposées à 2 mg kg⁻¹, les auteurs ont noté un retard de croissance (ex : plus faible prise de poids que dans le cas des contrôles), y compris après le sevrage. Chez les oiseaux, des corrélations entre teneurs de PFAA et perturbation du système endocrinien (ex : succès à l'éclosion) ont été observées (Tartu et al., 2014).

Les facteurs de bioconcentration du PFOS (BCF, déterminé comme K_u/K_d , où K_u est la constante cinétique d'accumulation et K_d la constante cinétique d'élimination) ont été évalués chez des organismes aquatiques en conditions contrôlées (Giesy et al., 2010). Drottar et al. (2001) ont exposé des crapets arlequins (*Lepomis macrochirus*) pendant 62 jours à $C_0 = 0,086 \text{ mg L}^{-1}$ de PFOS et ont estimé des BCF_{PFOS} de l'ordre de ~ 1900 pour les tissus comestibles (filet), ~ 4300 pour les tissus non-comestibles (nageoires, tête, viscères), et ~ 3600 pour l'organisme entier. Ces valeurs sont proches du seuil de $\text{BCF} = 5000$ fixé par l'Union Européenne pour les substances hautement bioaccumulables. A noter que l'exposition conduite par les auteurs à $10 \times C_0$ n'a pas été prolongée au-delà de 35 jours, en raison d'une mortalité excessive (Giesy et al., 2010). Martin et al. (2003b) ont déterminé des BCF_{PFOS} chez la truite arc-en-ciel (*O. mykiss*) de l'ordre de 1100 dans l'organisme entier, 4300 dans le sang, et 5400 dans le foie. Giesy et al. (2010) notent que les constantes d'élimination chez la truite arc-en-ciel ($K_d \sim 0,05$) suggèrent une élimination plus rapide du PFOS par rapport à certains contaminants organochlorés tels que les PCB (Fisk et al., 1998), mais beaucoup plus lente que d'autres tensioactifs (Tolls et Sjim, 1995).

Martin et al. (2003b) ont observé une corrélation entre les BCF et la longueur de la chaîne perfluoroalkyle des PFCA, le BCF augmentant d'un facteur ~ 8 pour chaque unité $-\text{CF}_2$ supplémentaire du PFNA ($n_C = 8$) au PFTTrDA ($n_C = 12$), la corrélation perdant son caractère linéaire au-delà (PFTTeDA, $n_C = 14$). Autre enseignement de ces études, l'organotropisme singulier montré par les PFAS. Ainsi, contrairement à d'autres POPs halogénés bioaccumulables qui se concentrent préférentiellement dans les tissus adipeux, les PFAS sont essentiellement accumulés au niveau du foie, du sang et des reins, en raison du caractère hydrophobe et lipophile que leur confère leur chaîne fluoroalkyle. Ces observations sont vraies aussi bien pour des expositions contrôlées en laboratoire (ex : Drottar et al., 2001 ; Martin et al., 2003b) que pour des études *in situ*. Par exemple, Ahrens et al. (2015) ont noté des concentrations tissulaires croissantes de PFAA entre le muscle et les branchies, le foie, ou le sang chez la perche (*Perca fluviatilis*), des observations qui rejoignent celles de Labadie et Chevreuil (2011a) chez le chevaine (*Squalius cephalus*). De même, Olivero-Verbel et al. (2006) ont mesuré des concentrations moyennes hépatiques et spléniques entre 45 et 75 fois plus élevées que les concentrations musculaires chez des spécimens de pélican brun (*Pelecanus occidentalis*) de la baie de Carthagène des Indes (Colombie).

Par ailleurs, Ahrens et al. (2009c et 2015) ont estimé la répartition de la charge corporelle totale des PFAS chez le phoque commun (*Phoca vitulina*) en Baie Allemande (Mer du nord) et la perche européenne (*P. fluviatilis*) à proximité de l'aéroport de Stockholm-Arlanda en Suède (**Figure 1.26**). Chez la perche européenne (Ahrens et al., 2015), les PFAS sont majoritairement présents (%)

massique de la charge corporelle totale) dans les gonades (~ 54 %), le foie (~ 19 %) et le muscle (~ 17 %). Chez le phoque commun (Ahrens et al., 2009c), la charge corporelle de ΣPFAS se répartit de façon égale entre le sang et le foie (~ 38 et 36 %, respectivement) ; à noter que les tissus adipeux ne contiennent que 2 % de la charge corporelle totale de ΣPFAS (**Figure 1.27**).

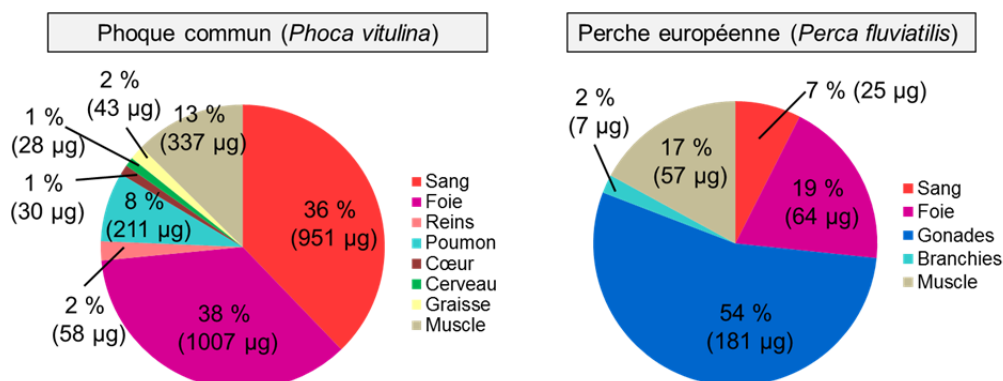


Figure 1.27. Répartition de la charge corporelle totale de la ΣPFAS chez le phoque commun (*P. vitulina*) en Baie Allemande et la perche européenne (*P. fluviatilis*) à proximité de l'aéroport de Stockholm-Arlanda. D'après Ahrens et al. (2009c et 2015)

Concernant les PFAS d'intérêt émergent, une étude récente de Hoke et al. (2015) semble dissiper les inquiétudes quant à la bioaccumulation et la toxicité du 6:2 FTSA : pour la truite arc-en-ciel, les auteurs rapportent des $BCF_{6:2-FTSA} < 40$ (phase d'exposition de 56 jours suivie d'une phase d'élimination de 28 jours) et une $LC_{50} > 108 \text{ mg L}^{-1}$. Par ailleurs, Moe et al. (2012) et Yeung et Mabury (2013) ont suggéré que l'accumulation apparente de fluorotélomères sulfonates (6:2 FTSA, 8:2 FTSA) au sein des organismes aquatiques pouvait être le reflet de transformations métaboliques de précurseurs tels que les fluorotélomères thioalkylamido sulfonates (FTSAS) ou les fluorotélomères sulfonamido bétaïnes (FTAB) qui ont récemment été identifiés dans les formulations de mousses extinctrices de type AFFF (Place et Field, 2012 ; D'Agostino et Mabury, 2014). Autre fait intéressant, les $BCF_{6:2-FTSA}$ déterminés par Hoke et al. (2015) sont inversement proportionnels au niveau d'exposition ($BCF_{1 \mu\text{g/L}} > BCF_{10 \mu\text{g/L}}$), ce qui rejoint les observations de Liu et al. (2011) pour le PFOS, le PFOA, le PFNA et le PFDA chez la moule (*Perna viridis*).

1.2.f. Degré d'imprégnation des êtres vivants, bioaccumulation et bioamplification

Le PFOS est un contaminant ubiquiste des environnements aquatiques et sa présence est avérée chez un grand nombre d'espèces animales (Houde et al., 2006 ; Ahrens, 2009 ; Houde et al., 2011). Parmi les PFAA, le PFOS domine généralement le profil moléculaire, suivi par les PFCA à longue chaîne ($n_c = 9-13$) (ex : Labadie et Chevreuil, 2011a). L'isomère linéaire du PFOS est prédominant par rapport aux isomères ramifiés (L-PFOS ~ 90 % du PFOS total) (ex : Houde et al., 2008 ; Fang et al., 2014a). Chez les mammifères, les teneurs hépatiques moyennes de PFOS varient typiquement entre $1-1000 \text{ ng g}^{-1}$ (Ahrens, 2009). Les teneurs les plus élevées ont été observées chez

l'ours polaire (*U. maritimus*) ($\sim 500\text{--}3000\text{ ng g}^{-1}$ de poids frais) et le vison (jusqu'à $\sim 30000\text{ ng g}^{-1}$ de poids frais), en lien avec leur régime alimentaire carnassier (Houde et al., 2006). Chez les cétacés, les teneurs hépatiques de PFOS s'échelonnent entre $\sim 10\text{ ng g}^{-1}$ de poids frais chez le narval (*Monodon monoceros*) du Nunavut (Canada) et $\sim 500\text{ ng g}^{-1}$ de poids frais pour le marsouin commun (*Phocoena phocoena*) en mer Baltique (Tomy et al., 2004 ; Van de Vijver et al., 2004). Une grande dispersion des teneurs hépatiques de PFOS est également observée chez les pinnipèdes, entre $\sim 5\text{ ng g}^{-1}$ de poids frais chez l'otarie d'Amsterdam (*Arctocephalus tropicalis*) au Brésil (Leonel et al., 2008) et $\sim 1000\text{ ng g}^{-1}$ de poids frais chez le phoque commun (*P. vitulina*) en Baie Allemande (Ahrens et al., 2009c). Chez les poissons, les teneurs de PFOS varient fortement selon le contexte de contamination. Par exemple, Tomy et al. (2004) ont rapporté des teneurs hépatiques de PFOS de l'ordre de $1,4\text{ ng g}^{-1}$ de poids frais chez le sébaste du Nord *Sebastes mentella* au niveau du Déroit de Davis (entre le Groenland et la Terre de Baffin), soit environ 150–300 fois moins que les teneurs hépatiques de PFOS observées chez cinq espèces de poissons du lac Tai en Chine, un site soumis à de fortes pressions anthropiques (Fang et al., 2014b). Pour les organismes de faible niveau trophique (bivalves filtreurs, zooplancton, autres invertébrés aquatiques), les teneurs de PFOS sont fréquemment $< 2\text{ ng g}^{-1}$ de poids frais dans l'organisme entier (Houde et al., 2006 ; Loi et al., 2011). Toutefois, des teneurs de PFOS élevées ($\sim 10\text{--}900\text{ ng g}^{-1}$) peuvent être occasionnellement observées, en lien avec des contextes particuliers de contamination (ex : Grands Lacs d'Amérique du Nord, estuaire de l'Escaut) (Van de Vijver et al., 2003 ; Martin et al., 2004c).

Le **Tableau 1.3** présente un aperçu des concentrations du PFOS et de la somme des PFAS (ΣPFAS) dans le foie ou le sang de quelques espèces aquatiques (oiseaux piscivores, mammifères marins, poissons, reptiles) couvrant la littérature récente (2010 à 2015).

Des différences inter-spécifiques importantes en termes de profils de PFAS ont été observées dans les écosystèmes aquatiques (Houde et al., 2006 ; Lau et al., 2007 ; Stock et al., 2010 ; Houde et al., 2011). Par exemple, Galatius et al. (2013) ont noté des différences inter-spécifiques très marquées pour le rapport PFOS/FOSA chez les mammifères marins, entre 0,1–10 chez les cétacés (dauphins, globicéphale, marsouin, béluga, narval, petit rorqual), 10–100 chez le phoque (ex : *Phoca hispida*), et 100–1000 chez l'ours polaire (*Ursus maritimus*). Nakata et al. (2006) ont observé une variation importante des rapports PFOA/PFOS entre habitats (vasières Vs eaux peu profondes), les organismes benthiques intertidaux étant caractérisés par des rapports PFOA/PFOS jusqu'à 10 000 fois plus élevés que les organismes pélagiques. Concernant la variabilité interindividuelle, les concentrations de PFAS peuvent être significativement plus élevées chez les juvéniles que chez les adultes, comme l'ont observé Fair et al. (2012) chez le grand dauphin (*Tursiops truncatus*) et Lescord et al. (2015) chez l'omble chevalier (salmonidé) (*Salvelinus alpinus*).

Tableau 1.3. Concentrations de perfluorooctane sulfonate (PFOS total) et du total des PFAS ciblés (Σ PFAS) dans le sang/plasma (ng mL^{-1}) ou le foie (ng g^{-1}) d'espèces aquatiques. LOD : limite de détection ; LOQ : limite de quantification ; Moy : concentration moyenne ; NA : information non disponible.

Référence	Matrice	Espèce étudiée	Site d'étude	Nombre de PFAS étudiés	Gamme de concentrations de Σ PFAS (*)	Gamme de concentrations du PFOS (*)	LODs ou LOQs (*)
Moon et al. 2010	Foie	Petit rorqual <i>Balaenoptera acutorostrata</i>	Corée (côtes)	10	NA	2,8–162	LOQ = 0,5–2
Moon et al. 2010	Foie	Dauphin commun <i>Delphinus capensis</i>	Corée (côtes)	10	NA	18–152	LOQ = 0,5–2
Peng et al. 2010	Foie	Esturgeon <i>Acipenser sinensis</i>	Yangtze, Chine	24	6,7–23	1,6–9,2	LOD = 0,04–1,4
O'Connell et al. 2010	Plasma	Tortue caouanne <i>Caretta caretta</i>	Etats-Unis (Est)	13	NA	0,305–37	LOD = 0,076–0,74
Kratzer et al. 2011	Foie	Phoque gris <i>Halichoerus grypus</i>	Mer Baltique	43	29–1532	0,02–1444	LOD = 0,001–0,097
Reiner et al. 2011	Foie	Beluga <i>Delphinapterus leucas</i>	Alaska, USA	12	18–240	2,2–57	NA
Fair et al. 2012	Plasma	Dauphin Tursiops <i>Tursiops truncatus</i>	Estuaires, USA (SE)	15	JUV**: 113–9670 FA**: 86,5–3820 MA**: 112–4470	JUV**: 2,0–560 FA**: 0,3–99 MA**: 1,9–275	NA
Flanary et al. 2012	Plasma	Otarie à fourrure <i>Callorhinus ursinus</i>	Alaska, USA	13	NA	0,9–19	NA
Gebbink et Letcher 2012	Foie	Goéland <i>Larus argentatus</i>	Lac Huron, Canada	21	90	84	LOQ=0,05–0,1
Gebbink et Letcher 2012	Plasma	Goéland <i>Larus argentatus</i>	Lac Huron, Canada	21	38	27	LOQ = 0,05–0,1
Greaves et Letcher 2012	Foie	Ours polaire <i>Ursus maritimus</i>	Groënland	11	NA	Moy = 3377 \pm 458	NA
Greaves et Letcher 2012	Sang	Ours polaire <i>Ursus maritimus</i>	Groënland	11	NA	Moy = 143 \pm 13	NA
Nøst et al. 2012	Plasma	Mouette tridactyle <i>Rissa tridactyla</i>	Norvège	20	12–26	8,0–19***	NA
Nøst et al. 2012	Plasma	Fulmar boreal <i>Fulmarus glacialis</i>	Norvège	20	27–139	20–104***	NA
Guerranti et al. 2013	Sang	Tortue caouanne <i>Caretta caretta</i>	Italie	2	1,1–29	1,1–29	LOD = 0,4
Chu et al. 2015	Foie	Albatros <i>Phoebastria nigripes</i>	Midway, Pacifique	18	58–94	23–70	LOD = 0,01–0,04
Routti et al. 2015	Plasma	Phoque <i>Leptonychotes weddellii</i>	Antarctique	17	NA	0,06	LOD = 0,003–0,09
Surma et al. 2015	Foie	Castor <i>Castor fiber</i>	Pologne	10	0,48–16	<LOQ–8,5	LOD = 0,025–0,085
Zabaleta et al. 2015	Foie	Mulet lippu <i>Chelon labrosus</i>	Espagne - c. Basque	24	NA	24–1062	LOD=0,1–4,1

(*) ng g^{-1} ou ng mL^{-1} . (**) JUV = juvéniles ; FA = femelle adulte ; MA = mâle adulte. ***Somme des perfluoroalkyle sulfonates (PFSA).

Martin et al. (2003a) ont étudié la bioaccumulation du PFOS par voie trophique sur des juvéniles de truite arc-en-ciel (*O. mykiss*) en conditions contrôlées en laboratoire. Les auteurs ont estimé des facteurs de bioaccumulation de l'ordre de 1100, 4300 et 5400 pour l'organisme entier (carcasse), le sang et le foie, respectivement. Ainsi que l'ont commenté Giesy et al. (2010), l'étude de Martin et al. (2003a) révèle une plus forte efficacité d'assimilation du PFOS (~ 120 %) que dans le cas d'autres POPs organohalogénés tels que les PCB, pour lesquels l'assimilation alimentaire chez la truite est plutôt de l'ordre de 20 à 60 % (Fisk et al., 1998). Higgins et al. (2007) ont exposé pendant 56 jours des vers oligochètes *Lumbriculus variegatus* à des sédiments naturels contaminés par les PFAS et à des sédiments fortifiés avec des PFAS, et ont déterminé des facteurs de bioaccumulation du sédiment au biote (BSAF = concentration dans l'organisme, en ng g⁻¹ de poids frais, divisée par celle dans le sédiment, en ng g⁻¹ de poids sec). Les BSAF moyens étaient compris entre 0,22–0,98 pour les PFAA ciblés. Bertin et al. (2014) ont évalué les BSAF en conditions contrôlées en laboratoire après exposition pendant quatre jours de larves de chironomides *Chironomus riparius* (stade L4 précoce) à des sédiments du Rhône contaminés par les PFAS. Les auteurs ont déterminé des BSAF de l'ordre de 0,020–0,042 pour le PFUnDA, le PFTrDA et le PFOS.

Les facteurs de bioaccumulation déterminés *in situ* (BAF = concentration dans l'organisme, en ng kg⁻¹ de poids frais, divisée par la concentration en phase dissoute, en ng L⁻¹) rejoignent généralement les tendances des études réalisées en laboratoire. Des valeurs de BAF relativement élevées sont observées pour le PFOS et les PFCA du PFNA au PFTeDA, alors que les PFAA de plus courte chaîne perfluoroalkyle ($n_C \leq 8$) ne sont pas considérés comme bioaccumulables (Conder et al., 2008). Par exemple, Moody et al. (2002) ont déterminé des BAF entre 6300 et 125000 pour le PFOS chez la truite arc-en-ciel (*O. mykiss*) suite à l'épisode de contamination du 8 Juin 2000 du ruisseau Etobicoke Creek (Ontario, Canada). Labadie et Chevreuil (2011a) ont observé une augmentation exponentielle du BAF chez le cheveine (*S. cephalus*) avec l'augmentation du nombre d'atomes de carbone perfluoroalkylés pour les PFSA du PFHxS au PFOS et les PFCA du PFNA au PFDoDA (**Figure 1.28**). Dans le muscle, seuls les Log BAF moyens du PFUnDA ($n_C = 10$) et du PFDoDA ($n_C = 11$) dépassent le critère fixé pour les substances hautement bioaccumulables, alors que dans le foie le PFOS et le PFDA peuvent également être considérés comme hautement bioaccumulables (Labadie et Chevreuil, 2011a). La relation linéaire observée par Labadie et Chevreuil (2011a) entre le Log BAF et la longueur de la chaîne perfluoroalkylée chez le cheveine *S. cephalus* (**Figure 1.28**) rejoint des observations de Kwadijk et al. (2010) chez l'anguille européenne (*Anguilla anguilla*).

Dans leur ensemble, les études de bioaccumulation *in situ* des PFAS confirment le lien entre propriétés structurales des PFAA (notamment longueur de chaîne perfluoroalkylée) et valeurs de BAF. Cependant, il faut garder à l'esprit qu'un BAF élevé ne traduit pas uniquement ou nécessairement une propension à la bioaccumulation du composé initialement présent dans le milieu abiotique (phase dissoute, sédiment), puisque certains précurseurs peuvent être métabolisés en PFAA après leur assimilation (ex : biotransformation du FOSA en PFOS).

Les PFAS ont fait l'objet d'une dizaine d'études concernant leur potentiel de bioamplification trophique dans les écosystèmes aquatiques (Martin et al., 2004c ; Tomy et al., 2004 ; Kannan et al.,

2005 ; Houde et al., 2006 ; de Vos et al., 2008 ; Kelly et al., 2009 ; Loi et al., 2011 ; Fang et al., 2014a ; Xu et al., 2014 ; Lescord et al., 2015). La bioamplification peut être évaluée par des comparaisons prédateur-proie (BMF), ou intégrée sur l'ensemble du réseau trophique en étudiant la relation entre niveau dans l'organisme (en ng g^{-1} de poids frais) en fonction du niveau trophique (TL, déterminé à partir des isotopes stables de l'azote), le facteur d'amplification trophique (TMF) étant alors obtenu à partir de la pente de la régression (**Figure 1.29**). Pour une meilleure compréhension de la distinction entre BMF et TMF, on pourra également se référer à Burkhard et al. (2013).

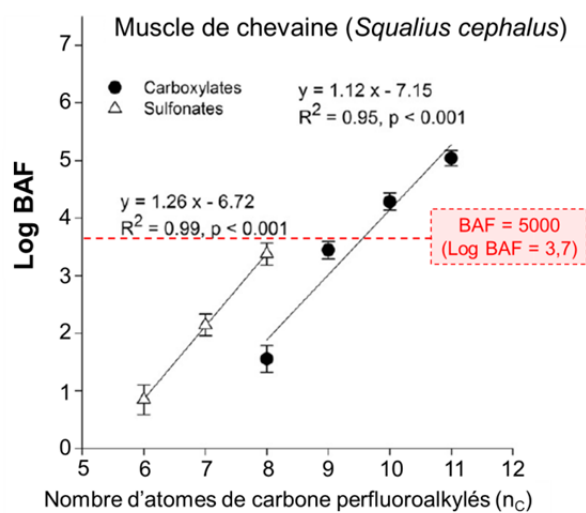


Figure 1.28. Corrélation entre le logarithme du facteur de bioaccumulation (Log BAF) et le nombre d'atomes de carbone de la chaîne perfluoroalkyle (n_C) dans le muscle de chevaines (*S. cephalus*) prélevés dans l'Orge (affluent de la Seine) pour les perfluoroalkyle sulfonates et les perfluoroalkyle carboxylates. Le critère actuel de classification des substances hautement bioaccumulables (BAF = 5000) est indiqué par la ligne pointillée rouge. D'après Labadie et Chevreuil (2011a).

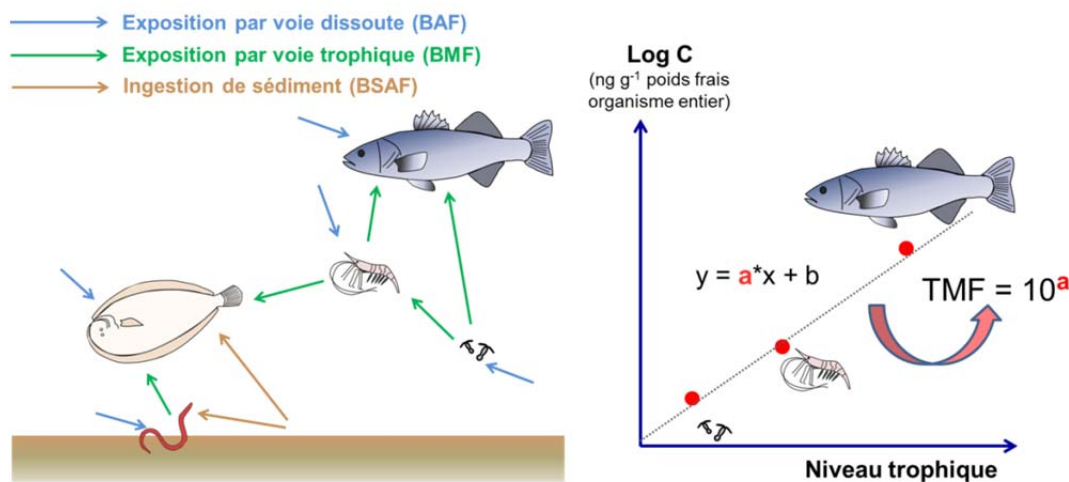


Figure 1.29. Schéma de synthèse présentant les facteurs de bioaccumulation (BAF, BSAF) et de bioamplification (couple prédateur/proie : BMF ; plusieurs échelons trophiques : TMF).

Les compartiments riches en PFAS sont souvent échantillonnés pour les prédateurs supérieurs (sang, foie), alors que les analyses sur les espèces de plus faible niveau trophique sont souvent réalisées sur l'organisme entier, ce qui peut générer une surestimation des TMF (Houde et al., 2011 ; Borgå et al., 2011). Comme dans le cas des BAF, la métabolisation de précurseurs est un autre biais qui peut conduire à des TMF « apparents » élevés pour les PFAA. Une revue détaillée des différents biais méthodologiques pouvant survenir lors de la détermination des TMF a été réalisée par Borgå et al. (2011). Les valeurs de TMF rapportées dans la littérature pour le PFOS varient globalement entre 1,3 (Loi et al., 2011) et 11 (Kelly et al., 2009), traduisant son potentiel de bioamplification trophique ($TMF > 1$). Des $TMF > 1$ ont aussi été observés pour les PFAA du PFNA au PFDoDA (ex : Xu et al., 2014). Dans le réseau trophique du Lac Tai en Chine, Fang et al. (2014a) ont remarqué que le TMF des isomères du PFOS suivait l'ordre croissant suivant : dérivé isopropyle (2,59) < dérivés diméthylés (2,67) < dérivés monométhylés (2,92–3,35) < L-PFOS (3,86), en lien avec le caractère hydrophobe plus marqué de l'isomère linéaire par rapport aux isomères ramifiés (Br-PFOS) et des différences de cinétiques d'élimination.

Dans leur ensemble, les données d'occurrence chez les espèces aquatiques suggèrent que la consommation de produits de la pêche est une source importante de PFAS pour l'homme (Vestergren et al., 2012a ; Denys et al., 2014 ; Squadrone et al., 2014 ; Yamada et al., 2014a,b), notamment le PFOS et les PFCA à longue chaîne ($n_C > 8$). Vestergren et al. (2012a) ont estimé l'exposition alimentaire chez la population suédoise à $\sim 0,86\text{--}1,4 \text{ ng kg}^{-1} \text{ jour}^{-1}$ pour le PFOS, $\sim 0,09\text{--}0,21 \text{ ng kg}^{-1} \text{ jour}^{-1}$ pour le PFUnDA, $\sim 0,05\text{--}0,11 \text{ ng kg}^{-1} \text{ jour}^{-1}$ pour le PFDA et $\sim 0,07\text{--}0,08 \text{ ng kg}^{-1} \text{ jour}^{-1}$ pour le PFNA, principalement à travers la consommation de viande et de poisson. En combinant les résultats de leur étude (Vestergren et al., 2012a) et celles d'Haug et al. (2011) et Ullah et al. (2011), les auteurs ont estimé que l'exposition par voie alimentaire représentait $\sim 80 \%$ du total de l'exposition humaine au PFOS ($n_C = 8$), alors que pour le PFHxS ($n_C = 6$), la consommation d'eau potable semble être la voie prédominante (**Figure 1.30**).

Depuis 2001, de nombreuses études ont été menées afin d'évaluer les niveaux de PFOS et d'autres PFAA chez les populations humaines non exposées aux PFAS par leur activité professionnelle (Lau et al., 2007). Dans le sang humain, le PFOS domine généralement le profil de PFAA, avec des concentrations souvent comprises entre $1\text{--}50 \text{ ng mL}^{-1}$. Un aperçu des concentrations de PFOS et du total des PFAS (ΣPFAS) dans le sang humain est présenté au **Tableau 1.4**.

En France, les études de Kadar et al. (2011b), Antignac et al. (2013) et Cariou et al. (2015) ont donné une première évaluation de l'exposition humaine par les PFAS en France métropolitaine. Cariou et al. (2015) rapportent des concentrations médianes ($\Sigma_7\text{PFAA}$) de l'ordre de $5,7 \text{ ng mL}^{-1}$ dans le sang maternel et $2,8 \text{ mg L}^{-1}$ dans celui du cordon ombilical, les composés majoritaires du profil moléculaire étant le PFOS, le PFOA, le PFHxS et le PFNA (**Figure 1.31**).

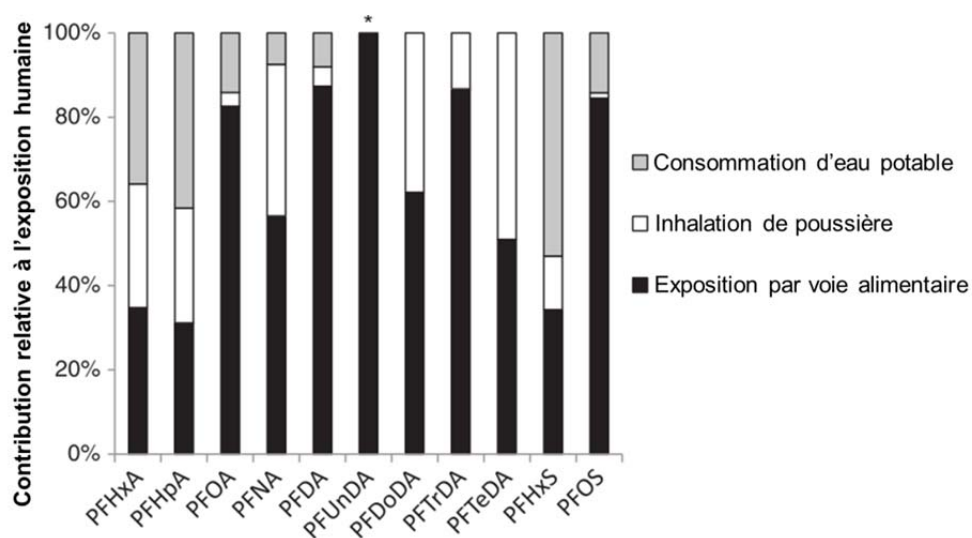


Figure 1.30. Estimation de la contribution relative des principales voie d'exposition humaine aux PFAA (consommation d'eau potable, inhalation de poussière intérieure, voie alimentaire). D'après Vestergren et al. (2012a).

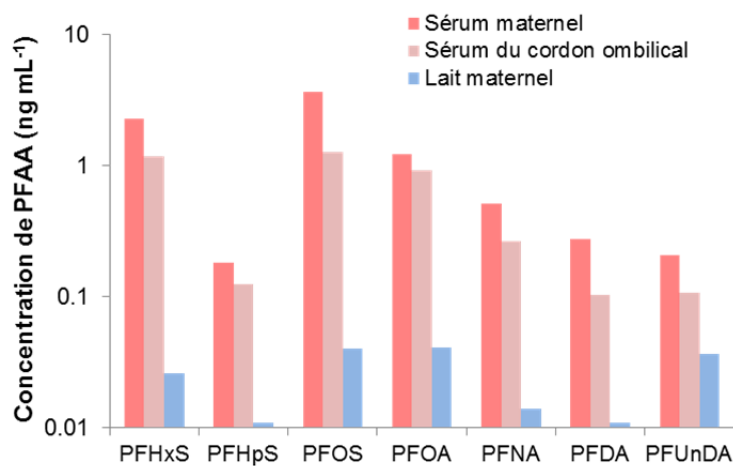


Figure 1.31. Concentrations moyennes de PFAA observées dans le sérum maternel, le sérum du cordon ombilical, et le lait maternel humain (étude menée en France en 2010 et 2013, n ~ 100). Adapté de Cariou et al. (2015).

Tableau 1.4. Concentrations de perfluorooctane sulfonate (PFOS total) et du total des PFAS ciblés (Σ PFAS) dans le sang humain (ng mL^{-1}). LOD : limite de détection ; LOQ : limite de quantification ; Moy = concentration moyenne ; NA : information non disponible.

Référence	Site d'étude	Nombre de PFAS étudiés	Gamme de concentrations de Σ PFAS (ng mL^{-1})	Gamme de concentrations du PFOS (ng mL^{-1})	LODs ou LOQs (ng mL^{-1})
SANG HUMAIN					
Taniyasu et al. 2003	Japon	3	NA	2,4–41	NA
Inoue et al. 2004	Hokkaido, Japon	3	4,9–20	4,9–18	LOD = 0,5–1
Kubwabo et al. 2004	Canada	3	3,7–70	3,7–65	LOD = 1,1–1,5
Guruge et al. 2005	Sri Lanka	13	0,78–43	0,35–18	LOD = 0,004–0,072
Kuklenyik et al. 2005	Atlanta, USA	18	26–74	21–64	LOD = 0,05–0,8
Olsen et al. 2005	USA	7	NA	21–44	LOQ = 1–3,4
Kärrman et al. 2006	Australie	12	NA	13–30	LOD = 0,1–0,5
Kärrman et al. 2006	Sweden	12	NA	1,7–37	LOD = 0,1–2
van Leeuwen et al. 2006	Suède	13	NA	1,8–24	LOQ = 0,1–2,4
Yeung et al. 2006	Chine	10	4,0–162	1,7–155	LOQ = 0,1–0,2
Kärrman et al. 2007	Suède	14	NA	8–48	LOD = 0,1–1,1
Ehresman et al. 2007	USA	4	<LOQ–880	14–8280	LOQ = 5–10
Fromme et al. 2007	Allemagne	2	NA	1,5–31	LOQ = 0,5
Kärrman et al. 2007	Australie, Royaume-Uni, Suède	1	-	6,7–91	NA
Ericson et al. 2007	Espagne	13	NA	0,76–1,6	LOD = 0,09–1,1
Yeung et al. 2008	Chine	10	NA	0,45–83	LOD = 3
Haug et al. 2009	Norvège	19	2,6–43	1,8 à 33	LOQ = 0,05–0,1
Wilhelm et al. 2009	Allemagne	6	NA	8,1–151	LOD = 0,1–1,1
Roosens et al. 2010	Belgique	8	NA	0,8–16	LOQ = 0,02–1,5
Hanssen et al. 2010	Afrique du Sud	5	NA	<LOD–16	LOD = 0,1
Glynn et al. 2012	Suède	14	14–35	5,1–28	LOD = 0,007–0,7
Cariou et al. 2015	France métropolitaine	20	NA	<LOD–25	LOQ = 0,3–0,4

Au terme de ce tour d'horizon sur les PFAS, il reste encore à mentionner la diversité des activités de recherche sur l'occurrence et le devenir environnemental des PFAS en France. Ainsi dénombre-t-on, à la fin 2015, une vingtaine de rapports ou de publications dans des revues à comité de lecture. En général, les deux principales familles de PFAS ciblées par ces études sont les perfluoroalkyle sulfonates (PFSA) et les perfluoroalkyle carboxylates (PFCA). Un premier état des lieux de l'occurrence des PFAS dans les eaux souterraines et l'eau potable à l'échelle nationale a été réalisé en 2009 et 2010, piloté par l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES, 2011 ; Boiteux et al., 2012). En 2011, le Bureau de Recherches Géologiques et Minières (BRGM) et l'Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques (ONEMA) ont organisé une vaste campagne prospective (N = 494 sites) afin d'évaluer l'occurrence de micropolluants d'intérêt émergent (dont les PFAS) dans les eaux souterraines de France métropolitaine (Lopez et al., 2015). Le LABORatoire d'Etude des Résidus et des Contaminants dans les Aliments (LABERCA) a exploré le degré d'imprégnation humaine aux PFAS en France, à travers la caractérisation de leur occurrence dans le lait maternel (étude-pilote ELFE) (Antignac et al., 2013) ou dans le sang humain (Cariou et al., 2015), ainsi que l'exposition humaine liée à la consommation de poissons d'eau douce et/ou de produits de la mer (Denys et al., 2014 ; Yamada et al., 2014a,b). L'occurrence des PFAS et d'autres micropolluants organohalogénés chez les mollusques en milieu côtier et chez l'anguille européenne (*Anguilla anguilla*) en estuaire de Loire ont fait l'objet de publications de Munsch et al. (2013 ; 2015) et de Couderc et al. (2015), respectivement. Miège et al. (2012) ont documenté les niveaux de PFOS et d'autres micropolluants organohalogénés dans une cinquantaine d'échantillons de poissons collectés dans le Rhône en aval de Lyon. Dans le cadre du programme PIREN-Seine, Labadie et Chevreuil (2011a,b) ont ouvert des pistes sur l'adsorption et/ou la bioaccumulation des PFAS en milieu fluvial urbain. Enfin, Bertin et al. (2014) ont étudié la cinétique de bioaccumulation des PFAS chez les larves de chironome (*C. riparius*) en conditions contrôlées de laboratoire.

CHAPITRE II

MATERIELS ET METHODES

MATERIELS ET METHODES

Ce chapitre recense les analytes, sites d'échantillonnage et modèles biologiques étudiés, ainsi que les procédures appliquées depuis le prélèvement de l'échantillon jusqu'à la génération des données. Les étapes de préparation des différentes matrices environnementales, les techniques d'analyse instrumentale, ainsi que les stratégies de quantification adoptées sont donc renseignées. Du fait de l'éloignement de certains sites (Terres Australes et Antarctiques Françaises, Départements d'Outre-Mer) ou du nombre considérable d'échantillons à traiter pour certains projets, il s'est parfois écoulé de quelques jours à quelques mois entre l'instant du prélèvement et le démarrage de la procédure d'analyse au laboratoire. Par conséquent, la conservation des analytes en amont de la procédure analytique a été caractérisée (ex : test de stabilité à 4°C, test de congélation).

Les méthodologies mises en œuvre pour l'évaluation des performances analytiques sont également explicitées dans ce chapitre. Si de grandes tendances se dégagent quant à la liste des paramètres évalués par les différents auteurs lors de la validation des méthodes analytiques (linéarité, limite de détection et de quantification, effet matrice, rendement, fidélité, justesse), il faut garder à l'esprit que ces paramètres peuvent ne pas recouvrir exactement les mêmes réalités selon les équipes de recherche travaillant dans ce domaine. A titre d'exemple, la limite de détection peut tantôt désigner la capacité de l'instrument à détecter d'infimes quantités d'analyte en l'absence de matrice (limite de détection instrumentale), tantôt se référer à la quantité minimale d'analyte requise pour assurer sa détection dans un échantillon réel, intégrant donc notamment les notions de rendement d'extraction ou d'effet matriciel (limite de détection de la méthode). La présence d'analyte dans les blancs de protocole peut toutefois être un facteur limitant dans le cas de cette dernière définition. Les limites de détection peuvent varier sensiblement selon que l'on applique le mode de calcul du « rapport signal sur bruit » ou que l'on se base sur la courbe d'étalonnage. En outre, l'état de sensibilité des équipements instrumentaux pouvant être variable au cours du temps, les limites de détection revendiquées par les auteurs devraient plutôt être vues comme un ordre de grandeur que comme une valeur figée. Il conviendra donc de rester prudent quant à la comparaison directe des performances des méthodes décrites dans le présent manuscrit avec d'autres méthodes similaires.

Ces travaux de thèse ont été conduits d'une part à l'Université de Bordeaux au sein de L'équipe de Physico- et Toxico-Chimie de l'environnement (LPTC) de l'UMR 5805 Environnements et Paléo-environnements Océaniques et Continentaux (EPOC), et d'autre part à l'Université de Montréal (UdeM) au sein du département de chimie analytique environnementale. Dans un effort d'homogénéisation, les étalons analytiques des PFAS ont tous été acquis chez *Wellington Laboratories* et une matrice de référence commune a été utilisée pour le contrôle de la justesse (NIST SRM 1947). Toutefois, certaines différences peuvent subsister entre les sites ; le cas échéant, ces particularités ont donc été spécifiées.

II.1. CHOIX DES PFAS ETUDIÉS

Historiquement, les premières publications portant sur la toxicité des PFAS se sont focalisées sur le perfluorooctanoate (PFOA) (ex : Kennedy et al., 1987) alors que la première mise en évidence de leur caractère ubiquiste chez les êtres vivants a concerné le perfluorooctane sulfonate (PFOS) (Giesy et Kannan, 2001). Il n'est donc guère surprenant que le PFOS et le PFOA fassent partie des analytes les plus fréquemment recherchés dans les études de suivi environnemental des PFAS. Des études antérieures ont montré des fréquences d'occurrence et des concentrations parfois élevées pour ces deux composés dans les matrices aqueuses. D'autres acides perfluoroalkylés (PFAA) à chaîne courte sont également retrouvés en proportions importantes dans les matrices aqueuses, une conséquence probable de la transition partielle des industries productrices de PFAS vers ces substituts *a priori* moins toxiques et bioaccumulables. Dans les matrices biologiques et le sédiment, les acides carboxyliques comprenant de 8 à 13 atomes de carbone perfluorés (n_c) sont encore fréquemment retrouvés, quoique souvent de façon moins prépondérante que le PFOS, alors que les composés de plus courte chaîne perfluoroalkyle sont plus rarement détectés.

Une liste préliminaire a donc été établie au LPTC comprenant des PFAA de longueurs de chaînes perfluoroalkyles variées ($n_c = 3-13$ et $n_c = 4,6,7,8,10$ pour les acides carboxyliques et sulfoniques, respectivement). Il nous est également apparu pertinent d'y ajouter un précurseur potentiel du PFOS, le perfluorooctane sulfonamide (FOSA), qui a été observé à des niveaux relativement élevés chez certains organismes aquatiques, ainsi que ses dérivés N-alkyles (N-méthyle et N-éthyle perfluorooctane sulfonamide) (MeFOSA et EtFOSA). Les acides N-alkyle perfluorooctane sulfonamide acétiques (MeFOSAA, EtFOSAA) sont parfois retrouvés à des niveaux relativement importants dans le sédiment et sont d'autres précurseurs potentiels du PFOS ; nous avons donc inclus ces molécules à notre liste. Le 6:2 fluorotélomère sulfonate (6:2 FTSA), également ajouté à la liste, est un substitut potentiel du PFOS dans les formulations de mousses extinctrices ainsi que dans certaines applications de chromage et de placage de métaux. Bien que structurellement très proche du PFOS, il s'en distingue par le fait que seuls 6/8 atomes de sa chaîne carbonée portent entièrement des atomes de fluor, ce qui a notamment pour conséquence de diminuer le caractère hydrophobe de la molécule par rapport à son analogue perfluoroalkylé (PFOS). Notre liste préliminaire couvre donc certaines des principales sous-familles de PFAS anioniques ou neutres pour un total de 22 composés natifs (pureté chimique supérieure à 98 %) et 10 étalons internes (Cf. § II.5.c). Par la suite, nous avons été amenés à compléter cette liste par des PFAS d'intérêt émergent, incluant d'autres fluorotélomères sulfonates (4:2 FTSA, 8:2 FTSA) ainsi que des phosphates de polyfluoroalkyles (6:2 diPAP, 8:2 diPAP, diSAmPAP). Des étalons internes supplémentaires ($^{13}\text{C}_2$ -PFTeDA, $^{18}\text{O}_2$ -PFHxS, $^{13}\text{C}_2$ -6:2 FTSA, $^{13}\text{C}_4$ -6:2 diPAP) sont également venus compléter la liste initiale.

A l'UdeM, la liste préexistante comprenait le PFOS ainsi que quatre acides carboxyliques (PFOA, PFDA, PFUnDA, et PFDoDA) dont les étalons étaient fournis par Sigma-Aldrich (pureté chimique : 95–98 %). Dans un souci d'homogénéisation entre les deux laboratoires, il a été convenu d'acquérir la totalité des composés natifs et des étalons internes chez un fournisseur commun

(*Wellington Laboratories*). Lors du premier séjour (2013), la liste initiale a donc été enrichie d'autres PFAA ; nous y avons également ajouté un précurseur perfluoroalkylé du PFOS (FOSA) et un fluorotélomère sulfonate (6:2 FTSA). C'est au total 19 PFAS natifs et 9 étalons internes (également acquis chez Wellington) qui ont donc fait l'objet des développements méthodologiques du premier séjour. Lors du deuxième séjour, l'accent a été mis davantage sur la recherche de suspects par spectrométrie de masse haute résolution. Des résultats préliminaires ont suggéré la présence d'autres composés polyfluorés (dont les fluorotélomères carboxylates) dans les échantillons ; notre partenaire de l'Université de McGill à Montréal nous a donc fait parvenir certains de ses étalons pour la quantification (donnés par DuPont). Cette collaboration nous a également permis d'obtenir 7 étalons de composés perfluoroalkyles zwitterioniques ou cationiques. Il convient de souligner qu'aucun PFAS zwitterionique ou cationique n'est pour l'instant disponible chez les fournisseurs habituels de PFAS certifiés. Les 7 étalons, synthétisés à l'Université de Pékin (pureté chimique : 95–98 %), ont donc été utilisés à des fins d'optimisation et de validation de méthode ou encore afin d'estimer la concentration d'autres PFAS zwitterioniques ou cationiques retrouvés dans les échantillons (semi-quantification). Les PFAS natifs utilisés dans le cadre de ces travaux de thèse ainsi que les chapitres de résultats concernés par ces composés sont détaillés ci-après (**Tableau 2.1** et **Figure 2.1**).

Tableau 2.1. Principaux PFAS natifs étudiés (n : nombre d'atomes de carbone perfluoroalkylés).

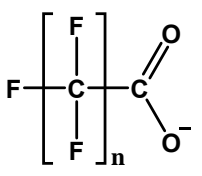
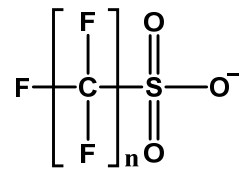
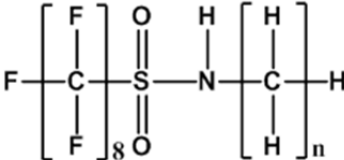
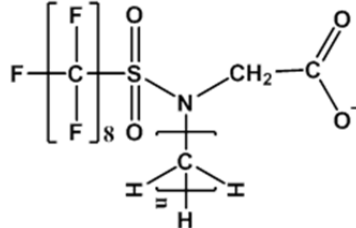
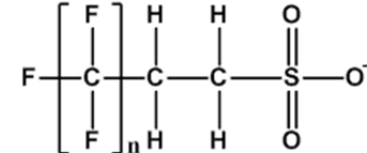
Famille /Structure	n	Acronyme	Nom usuel	CAS	Fournisseur	Chapitres
PFCA 	n = 3	PFBA	acide perfluorobutanoïque	375-22-4	Wellington	III.3, IV, VI
	n = 4	PFPeA	acide perfluoropentanoïque	2706-90-3	Wellington	III.3, IV, VI
	n = 5	PFHxA	acide perfluorohexanoïque	307-24-4	Wellington	III.3, IV, VI
	n = 6	PFHpA	acide perfluoroheptanoïque	375-85-9	Wellington	III, IV, V, VI
	n = 7	PFOA	acide perfluorooctanoïque	335-67-1	Wellington	III, IV, V, VI
	n = 8	PFNA	acide perfluorononanoïque	375-95-1	Wellington	III, IV, V, VI
	n = 9	PFDA	acide perfluorodecanoïque	335-76-2	Wellington	III, IV, V, VI
	n = 10	PFUnDA	acide perfluoroundecanoïque	2058-94-8	Wellington	III, IV, V, VI
	n = 11	PFDoDA	acide perfluorododecanoïque	307-55-1	Wellington	III, IV, V, VI
	n = 12	PFTTrDA	acide perfluorotridecanoïque	72629-94-8	Wellington	III, IV, V, VI
	n = 13	PFTeDA	acide perfluorotetradecanoïque	376-06-7	Wellington	III, IV, V, VI
	n = 15	PFHxDA	acide perfluorohexadecanoïque	67905-19-5	Wellington	III.3, VI
	n = 17	PFOcDA	acide perfluorooctadecanoïque	16517-11-6	Wellington	III.3, VI
PFSA 	n = 4	PFBS	acide perfluorobutane sulfonique	375-73-5	Wellington	III, IV, V, VI
	n = 6	PFHxS	acide perfluorohexane sulfonique	355-46-4	Wellington	III, IV, V, VI
	n = 7	PFHpS	acide perfluoroheptane sulfonique	375-92-8	Wellington	III, IV, V, VI
	n = 8	PFOS	acide perfluorooctane sulfonique	1763-23-1	Wellington	III, IV, V, VI
	n = 10	PFDS	acide perfluorodecane sulfonique	355-77-3	Wellington	III, IV, V, VI

Tableau 2.1. (Suite).

Famille /Structure	n	Acronyme	Nom usuel	CAS	Fournisseur	Chapitres
FOSA et dérivés						
	n = 0	FOSA	perfluorooctane sulfonamide	754-91-6	Wellington	III, IV, V, VI
	n = 1	MeFOSA	N-méthyle perfluorooctane sulfonamide	31506-32-8	Wellington	III.1, III.2, IV, V
	n = 2	EtFOSA	N-éthyle perfluorooctane sulfonamide	4151-50-2	Wellington	III.1, III.2, IV, V
N-Alkyle FOSAA						
	n = 1	MeFOSAA	N-méthyle perfluorooctane sulfonamido acide acétique	NA*	Wellington	III.1, III.2, IV, V
	n = 2	EtFOSAA	N-éthyle perfluorooctane sulfonamido acide acétique	NA*	Wellington	III.1, III.2, IV, V
FTSA						
	n = 4	4:2 FTSA	4:2 fluorotélomère sulfonate	414911-30-1	Wellington	III.2, IV.3
	n = 6	6:2 FTSA	6:2 fluorotélomère sulfonate	425670-75-3	Wellington	III, IV, V, VI
	n = 8	8:2 FTSA	8:2 fluorotélomère sulfonate	481071-78-7	Wellington	III.2, IV.3

*NA : non disponible.

Tableau 2.1. (Suite).

Famille /Structure	n	Acronyme	Nom usuel	CAS	Fournisseur	Chapitres
FTCA						
$\text{F}-\left[\begin{array}{c} \text{F} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{F} \end{array}\right]_n-\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array}-\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array}-\begin{array}{c} \text{O} \\ // \\ \text{C} \\ \backslash \\ \text{O}^- \end{array}$	n = 5	5:3 FTCA	5:3 fluorotélomère carboxylate	914637-49-3	DuPont	VI
	n = 7	7:3 FTCA	7:3 fluorotélomère carboxylate	812-70-4	DuPont	VI
FTUCA						
$\text{F}-\left[\begin{array}{c} \text{F} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{F} \end{array}\right]_n-\begin{array}{c} \text{F} \\ \\ \text{C} \\ // \\ \text{C} \end{array}=\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array}-\begin{array}{c} \text{O} \\ // \\ \text{C} \\ \backslash \\ \text{O}^- \end{array}$	n = 5	6:2 FTUCA	6:2 fluorotélomère acide carboxylique insaturé	70887-88-6	DuPont	VI
	n = 7	8:2 FTUCA	8:2 fluorotélomère acide carboxylique insaturé	70887-84-2	DuPont	VI
diPAP*						
	n = 6	6:2 diPAP	6:2 fluorotélomère phosphate disubstitué	57677-95-9	Wellington	III.2, IV.3
	n = 8	8:2 diPAP	8:2 fluorotélomère phosphate disubstitué	678-41-1	Wellington	III.2, IV.3
	n = 8	diSAmPAP	Bis-(N-éthyle perfluorooctane sulfonamido éthane) phosphate	NA**	Wellington	III.2

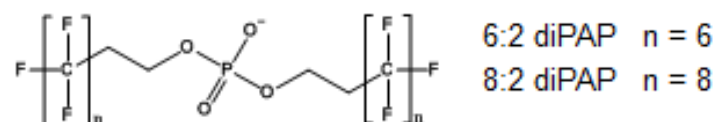
*Structures présentées en **Figure 2.1**. **NA : non disponible.

Tableau 2.1. (Suite).

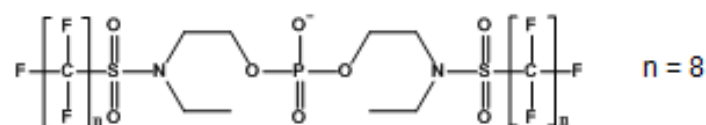
Famille /Structure*	n	Acronyme	Nom usuel	CAS	Fournisseur	Chapitres
PFAAB	n = 7	PFOAB	perfluorooctane amide b�ta�ne	90179-39-8	Université de Pékin	VI
PFASB	n = 8	PFOSB	perfluorooctane sulfonamide b�ta�ne	75046-16-1	Université de Pékin	VI
PFAANO	n = 7	PFOANO	perfluorooctane amido amine oxyde	30295-53-5	Université de Pékin	VI
PFASNO	n = 8	PFOSNO	perfluorooctane sulfonamido amine oxyde	30295-51-3	Université de Pékin	VI
PFAAAmS	n = 7	PFOAAmS	perfluorooctane amido ammonium	335-90-0	Université de Pékin	VI
PFASAmS	n = 8	PFOSAmS	perfluorooctane sulfonamido ammonium	1652-63-7	Université de Pékin	VI
PFASAm	n = 8	PFOSAm	perfluorooctane sulfonamide amine	13417-01-1	Université de Pékin	VI

*Structures présentées en **Figure 2.1**.

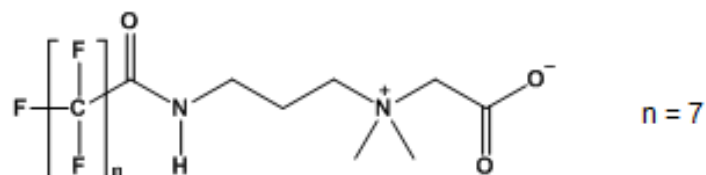
diPAPs



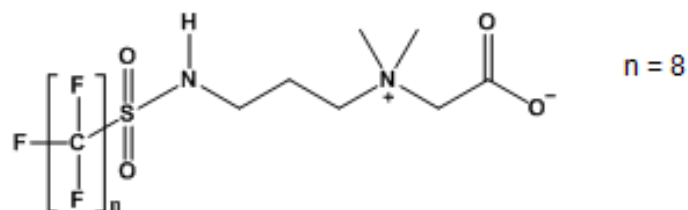
diSAmPAP



PFOAB

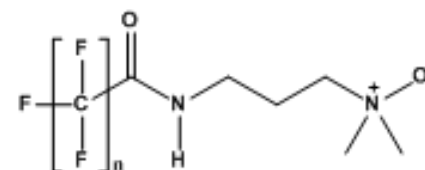


PFOSB



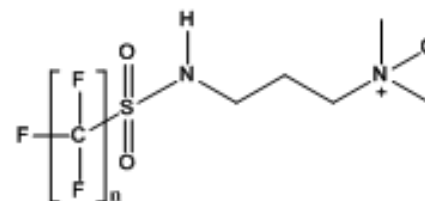
PFOANO

$n = 7$



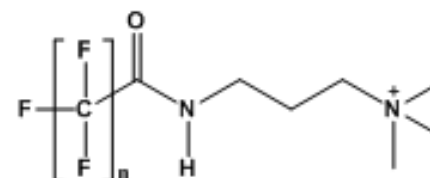
PFOSNO

$n = 8$



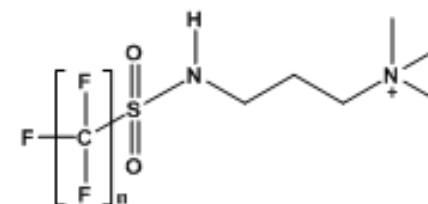
PFOAAmS

$n = 7$



PFOSAmS

$n = 8$



PFOSAm

$n = 8$

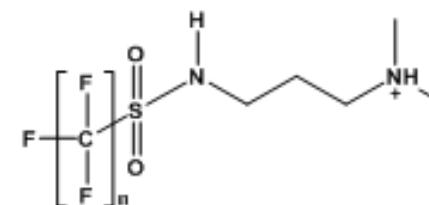


Figure 2.1. Structures des 6:2 diPAP, 8:2 diPAP, diSAmPAP, PFOAB, PFOSB, PFOAANO, PFOSANO, PFOAAmS, PFOSAmS et PFOSAm.

II.2. SITES D'ECHANTILLONNAGE ET MODELES BIOLOGIQUES

II.2.a. Estuaire de la Gironde

Situé au Sud-Ouest de la France, profonde indentation marquant la limite septentrionale de la Côte d'Argent, l'estuaire de la Gironde est avec ses 76 km de longueur l'un des plus grands d'Europe occidentale (**Figure 2.2**). La Gironde prend sa source au Bec d'Ambès, point de rencontre des deux plus longs fleuves du bassin Adour-Garonne, la Garonne (529 km) et la Dordogne (483 km) (<sandre.eaufrance.fr>). Sa forme régulière évoque celle d'un entonnoir : large d'environ 2 km au Bec d'Ambès (PK 25), l'estuaire s'élargit progressivement pour atteindre jusqu'à 11 km de section à marée haute au niveau des criques de Meschers-sur-Gironde (PK 85).

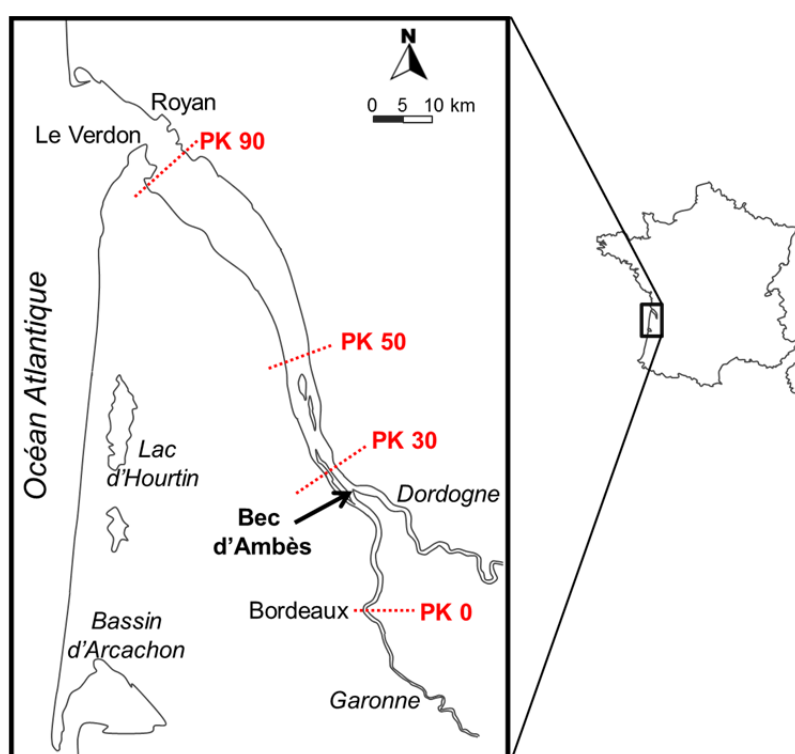


Figure 2.2. Estuaire de la Gironde.

Un chapelet d'îles occupe la zone oligohaline de l'estuaire (PK 25 à PK 50), les trois principales étant, d'amont en aval, l'ensemble Île Cazeau – Île du Nord – Île Verte, l'Île Nouvelle, et l'Île de Patiras. Au-delà, les îles centrales disparaissent pour laisser la place à des hauts fonds qui séparent le chenal de navigation principal (rive gauche) du chenal de Saintonge (rive droite), la jonction entre les deux voies n'intervenant qu'au niveau de la Pointe du Verdon près de l'embouchure (Verger, 2009). Si dans l'estuaire amont, les rives sont généralement bordées de vasières étroites, la marée basse découvre de vastes vasières (slikkes) plus en aval, par exemple au niveau du port de Neyran rive gauche ou de Talmont-sur-Gironde rive droite (**Figure 2.3**).



Figure 2.3. Vasières de Talmont-sur-Gironde.

Les conditions hydro-physiques de l'estuaire de la Gironde sont bien documentées dans la littérature (Allen et Castaing, 1973 ; Allen et al., 1980 ; Cancino et Neves, 1999 ; Sottolichio et Castaing, 1999). La Gironde est un estuaire macrotidal, l'amplitude du marnage oscillant généralement entre 1,5 et 5 m. Le Bec d'Ambès est généralement considéré comme la limite de salure des eaux, alors que l'influence de la marée dynamique s'étend plus en amont jusqu'aux sites de Pessac-sur-Dordogne (Dordogne) et de La Réole (Garonne) (PK -70). Cependant, la portée de la zone saline peut varier suivant le rythme des marées semi-diurnes, les cycles hebdomadaires de marées de vives eaux et de mortes eaux, ou encore à l'échelle des saisons suivant l'évolution des apports en eau douce. Les débits combinés de la Garonne et de la Dordogne évoluent généralement entre $200 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ en conditions d'étiage (fin d'été) et plusieurs milliers de $\text{m}^3 \text{ s}^{-1}$ lors des crues printanières, pour un débit annuel moyen de l'ordre de $700\text{--}1000 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$. Ces fleuves sont responsables d'un apport annuel d'environ deux millions de tonnes de particules, dont près des deux tiers sédimentent dans l'estuaire (Cancino et Neves, 1999). Par conséquent, le chenal de navigation est régulièrement entretenu par dragage entre les ports de Bordeaux (PK 0) et du Verdon (PK 90) (drague « Pierre Lefort » puis « Anita Conti » depuis 2013). La remobilisation périodique des sédiments lors du flot entretient une zone de forte charge en matières en suspension (MES) d'une étendue longitudinale allant jusqu'à plusieurs dizaines de km, nommée zone de turbidité maximale ou, plus couramment, « bouchon vaseux ». Les concentrations de MES en surface y sont fréquemment supérieures à 1 g L^{-1} et peuvent atteindre quelques centaines de g L^{-1} au fond (Sottolichio et Castaing, 1999). Souvent localisé entre les PK 30–50, le bouchon vaseux reste cependant sujet à des variations saisonnières (Sottolichio et Castaing, 1999). Lors d'épisodes de crues exceptionnelles, il se déplace près de l'embouchure (PK 90) et un panache brun peut alors se former dans le Golfe de Gascogne, témoin visible du transfert de grandes quantités de particules au plateau continental adjacent (Allen, 1972). La vasière Ouest-Gironde, localisée entre 25 et 50 km des côtes, a été identifiée comme principale plateforme de dépôt de ces particules (Lesueur, 1992 ; Gadel et al., 1997).

La turbidité limite fortement la production phytoplanctonique au niveau du bouchon vaseux ; la matière organique d'origine détritique est donc une composante essentielle du réseau trophique estuarien (Lobry, 2003). Maillon clé entre la matière détritique et l'ichtyofaune estuarienne, le

zooplancton est principalement représenté par les copépodes *Acartia spp.* et *Eurytemora affinis* et les mysidacés *Mesopodopsis slabberi* et *Neomysis integer*, dont l'abondance et la répartition spatiale fluctuent à l'échelle saisonnière (David, 2006). La faune macrozoobenthique, particulièrement abondante au niveau des slikkes de l'estran, est majoritairement composée d'invertébrés endobenthiques tels que l'annélide polychète *Nereis diversicolor*, de crustacés épibenthiques (crabes verts *Carcinus maenas*), et de mollusques bivalves (*Scrobicularia plana*, *Crassostrea gigas*) (**Figure 2.4**).

Photographies Mathilde Lauzent © 2014/09/24



Figure 2.4. Faune benthique observée au niveau de la vasière de Talmont-sur-Gironde (de gauche à droite : annélide polychète, crabe vert, huîtres).

Les eaux saumâtres de l'estuaire constituent une voie de passage pour un cortège de migrateurs amphihalins, tels que l'esturgeon européen (*Acipenser sturio*), l'anguille commune (*Anguilla anguilla*), la lamproie (*Petromyzon marinus*), ou l'alose (*Alosa spp.*) qui viennent s'y reproduire. Soles (*Solea solea*) et flets (*Platichthys flesus*) sont les principaux poissons plats benthiques de l'estuaire (**Figure 2.5**). L'estuaire sert de zone d'alevinage à un grand nombre d'espèces de poissons avant leur départ en haute mer. Conséquence probable du phénomène de marinisation progressif, la diminution de l'occurrence des espèces amphihalines et l'augmentation de celle des espèces marines (Boët, 2009), des petits poissons pélagiques tels qu'anchois (*Engraulis encrasicolus*) et sprats (*Sprattus sprattus*) jusqu'aux prédateurs tels que bars (*Dicentrarchus spp.*) et maigres (*Argyrosomus regius*). Les mammifères marins s'aventurent occasionnellement dans l'estuaire, notamment le phoque gris *Halichoerus grypus* ou le phoque commun *Phoca vitulina* (Gonzalez et al., 2009).

Trois grandes campagnes d'échantillonnage ont été menées sur l'estuaire de la Gironde afin de conduire une première évaluation des niveaux de PFAS dans ce milieu et de leur écodynamique. La **Figure 2.6** présente un résumé des sites et des périodes d'échantillonnage pour chacune de ces campagnes.

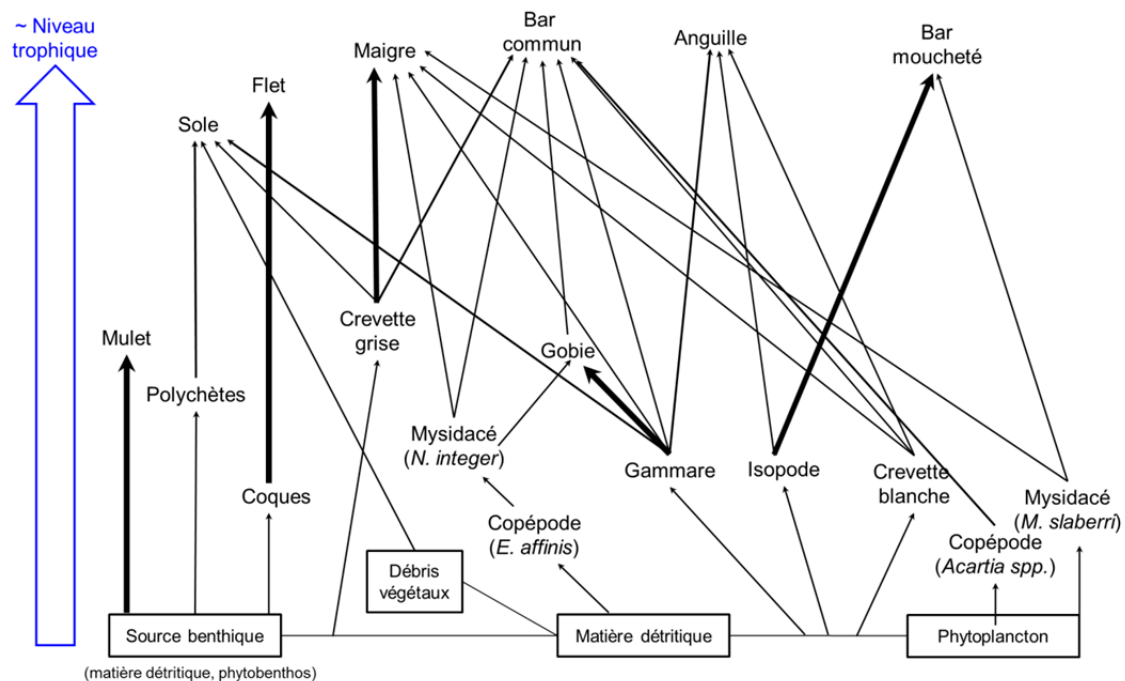


Figure 2.5. Représentation schématique des principaux liens trophiques existants au sein du réseau trophique de l'estuaire de la Gironde. Adapté de Pasquaud et al. (2010).

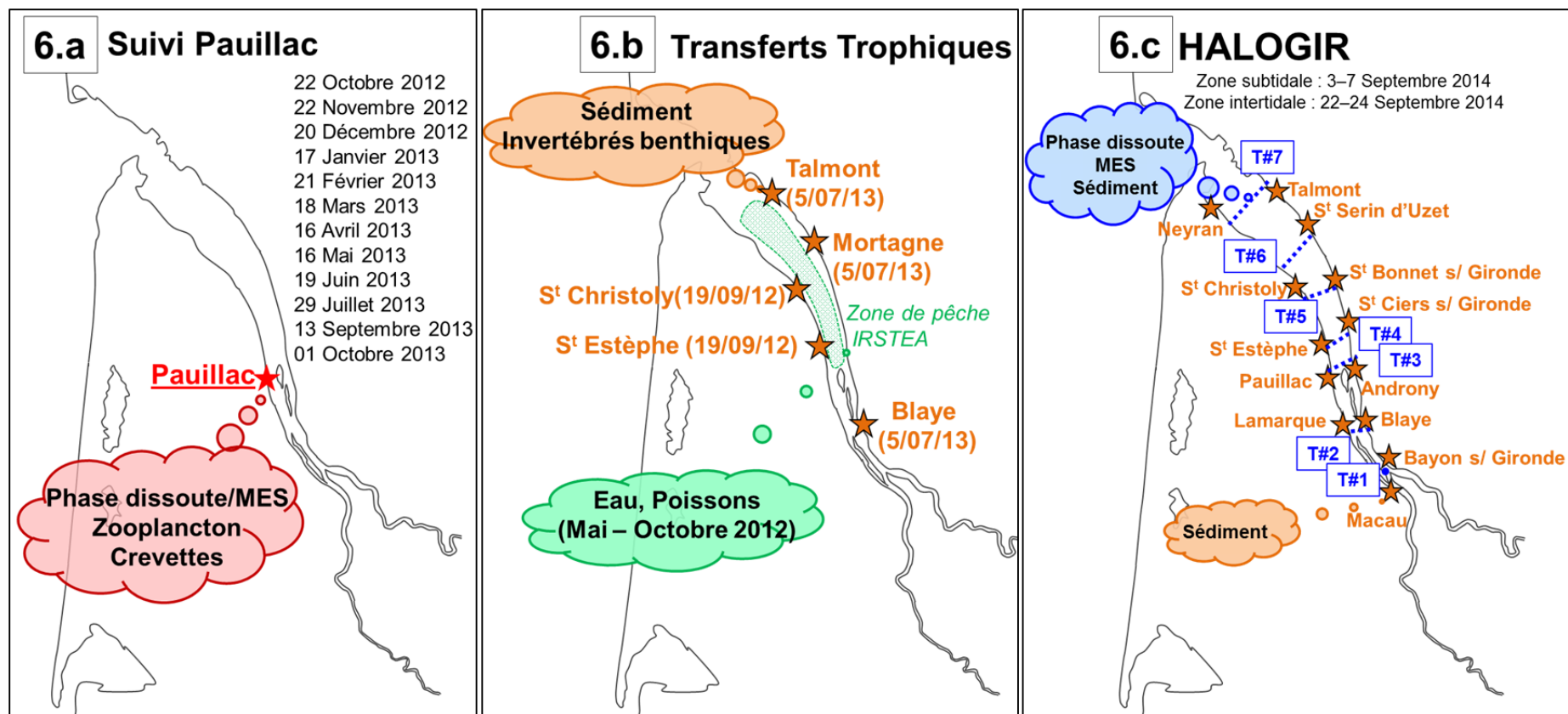


Figure 2.6. Stratégie d'échantillonnage dans l'estuaire de la Gironde. **6.a** : Suivi Pauillac. **6.b** : Transferts Trophiques (zone hachurée en vert : zone de pêche IRSTEA ; étoiles : vasières échantillonnées). **6.c** : HALOGIR (zones d'échantillonnage par bateau : transects T#1 à T#7, étoiles : échantillonnage des vasières). La zone d'échantillonnage T#8 (vasière Ouest-Gironde) n'apparaît pas sur le schéma.

Le projet PFC-Gironde s'est articulé en deux axes. Le premier a porté sur l'évaluation de la variabilité intra-annuelle des niveaux et profils moléculaires de PFAS dans la colonne d'eau (phase dissoute Vs MES) et les premiers maillons trophiques (zooplancton, crevettes) au niveau du site de Pauillac depuis un ponton extérieur à la marina (coordonnées GPS : Lat = 45,19845 °D, Lon = -0,74259°D), durant les deux dernières heures du flot et à des dates caractérisées par des coefficients de marée modérés (moyenne : 55 ± 8) (Tapie, 2006) (**Figure 2.6.a**). La collecte d'échantillons s'est déroulée d'Octobre 2012 à Octobre 2013 selon un pas de temps mensuel. Le deuxième axe de PFC-Gironde porte plus spécifiquement sur l'évaluation du transfert des PFAS au sein du réseau trophique de l'estuaire. Antérieurement au démarrage du doctorat, la collecte d'échantillons s'est déroulée entre mai et Octobre 2012, avec le concours de l'unité de recherche ADBX d'IRSTEA (Bordeaux-Cestas). L'effort d'échantillonnage a permis de réunir 18 taxons (n = 147 échantillons), incluant des poissons du réseau benthodémersal – bar commun *Dicentrarchus labrax* (n = 9), bar moucheté *Dicentrarchus punctatus* (n = 28), mulot *Liza ramada* (n = 12), maigre *Argyrosomus regius* (n = 12), anchois *Engraulis encrasicolus* (n = 6), sprat *Sprattus sprattus* (n = 3) et gobie *Pomatoschistus* spp. (n = 3) – et des poissons plats du réseau benthique – sole commune *Solea solea* (n = 31) et flet *Platichthys flesus* (n = 13) –, échantillonnés dans la zone mésohaline de l'estuaire (**Figure 2.6.b**). Les petits crustacés regroupent les copépodes (*Copepoda*, ind.) (n = 3), mysidacés (*Mysidacea*, ind.) (n = 2), crevettes blanches (*Palaemon longirostris*) (n = 4), crevettes grises (*Crangon crangon*) (n = 3) et gammarus (*Gammarus* spp.) (n = 3). D'autres invertébrés caractéristiques des slikkes ont été échantillonnés sur les deux rives de l'estuaire, au niveau de St Christoly rive gauche et de Talmont-sur-Gironde et de Mortagne rive droite (**Figure 2.6.b**) ; il s'agit d'annélides polychètes *Nereis diversicolor* (n = 5), de crabes verts *Carcinus maenas* (n = 3), de scrobiculaires *Scrobicularia plana* (n = 3) et d'huitres *Crassostrea gigas* (n = 3).

Le projet HALOGIR visait à établir une première cartographie de la contamination du sédiment de l'estuaire par les contaminants organohalogénés, dont les PFAS, et à étudier les facteurs de contrôle potentiels de leur répartition dans la colonne d'eau (phase dissoute Vs MES). La principale campagne d'échantillonnage s'est déroulée début Septembre 2014 (3–7 Septembre) à bord du navire de recherche le Côtes de la Manche. Dix-huit stations de prélèvement ont été ciblées dans l'estuaire de la Gironde (zones subtidales, transects T#1 à T#7) (**Figure 2.6.c**) et trois en milieu marin dans le golfe de Gascogne au niveau de la vasière Ouest-Gironde (zone T#8). Treize points de prélèvements supplémentaires sur les vasières le long de l'estuaire ont également été échantillonnés fin Septembre 2014. Les vasières de la rive gauche ont été échantillonnées lors de la mission du 22 septembre 2014, avec, d'aval en amont, Neyran, St Christoly, St Estèphe, Pauillac, Lamarque et Macau ; les vasières de la rive droite, lors de la mission du 24 septembre 2014, avec, d'aval en amont, Talmont-sur-Gironde, St Serin d'Uzet, St Bonnet-sur-Gironde, St Ciers-sur-Gironde, Androny, Blaye, et Bayon-sur-Gironde, juste en face du Bec d'Ambès (**Figure 2.6.c**).

II.2.b. Seine

La Seine draine un bassin versant de taille modeste (65000 km²). Le débit médian observé à Paris centre (quai d'Austerlitz) y est de 300 m³ s⁻¹ sur les quarante dernières années (<hydro.eaufrance.fr>). Outre la pression urbaine considérable inhérente à une population de plus de 10 millions d'habitants (région parisienne), les impacts d'origine anthropique comprennent l'agriculture (notamment à l'amont de Paris où cette dernière représente près de 80 % de l'occupation des sols) et les rejets industriels (Meybeck et al., 2004). Dans le cadre du programme PIREN-Seine, trois sites ont été sélectionnés afin d'évaluer l'impact de la ville de Paris sur les niveaux et les profils moléculaires de PFAS. Il s'agit des sites de Bougival, à 40 km en aval de Paris centre, et de Triel-sur-Seine, à 80 km en aval de Paris (et à quelques km suivant la confluence avec l'Oise) ; Marnay-sur-Seine, situé environ 200 km en amont de l'agglomération parisienne, a été choisi comme site de référence (**Figure 2.7**). La dynamique spatio-temporelle des PFAS (eau/sédiment) à l'amont et à l'aval de l'agglomération parisienne a donc été suivie au cours de quatre campagnes d'échantillonnage de situations hydrologiques contrastées (2011–2012), et leur transfert au compartiment biologique évalué sur un modèle biologique à la base du réseau trophique, le biofilm périphytique – ensemble des organismes (essentiellement algues, bactéries, Fungi, protozoaires) qui se développent sur des supports immergés (Fechner, 2010).

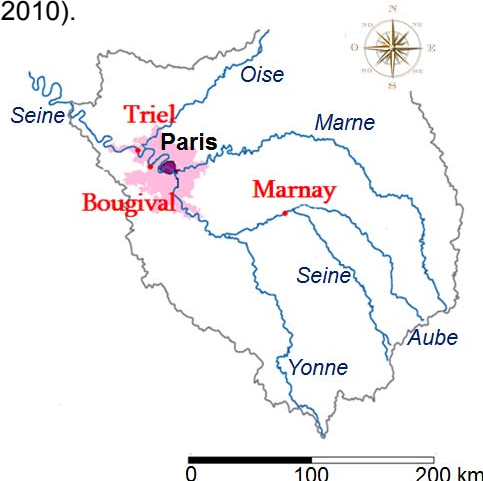


Figure 2.7. Localisation des sites de prélèvement du programme PIREN-Seine (2011–2012).

II.2.c. Lac-Mégantic et rivière Chaudière (Québec)

Ce projet avait pour objectif d'examiner le cas d'une contamination ponctuelle aux PFAS suite à l'utilisation d'environ 33 000 litres de mousses extinctrices dans le centre-ville de Lac-Mégantic afin de contenir l'incendie survenu suite à l'accident ferroviaire du 6 juillet 2013 (ERAP, 2014). Le train transportait près de 8 millions de litres de pétrole brut léger, dont près des trois quarts se sont répandus après le déraillement de 63 wagons citernes sur les 72 que comprenait le convoi. Si la majeure partie du pétrole a brûlé, on estime à quelques 100 000 litres la quantité qui a pu parvenir à la rivière Chaudière adjacente ; de même, il est probable qu'une partie des mousses anti-incendie utilisées sur le site ait pu atteindre la rivière Chaudière (MDDELCC, 2014). L'échantillonnage a porté sur la première section de la rivière Chaudière (« Haute Chaudière »), depuis sa source en sortie du lac Mégantic (PK 0) jusqu'à la confluence avec la rivière du Loup et la rivière Famine (PK 93). Les échantillons de sédiment utilisés dans le cadre de cette étude ont été collectés en 2014 dans le lac

Mégantic à quelques centaines de mètres du site de l'accident ($n = 5$) ainsi que dans la rivière Chaudière suivant un gradient longitudinal (PK 0,6–PK 92) (**Figure 2.8**).

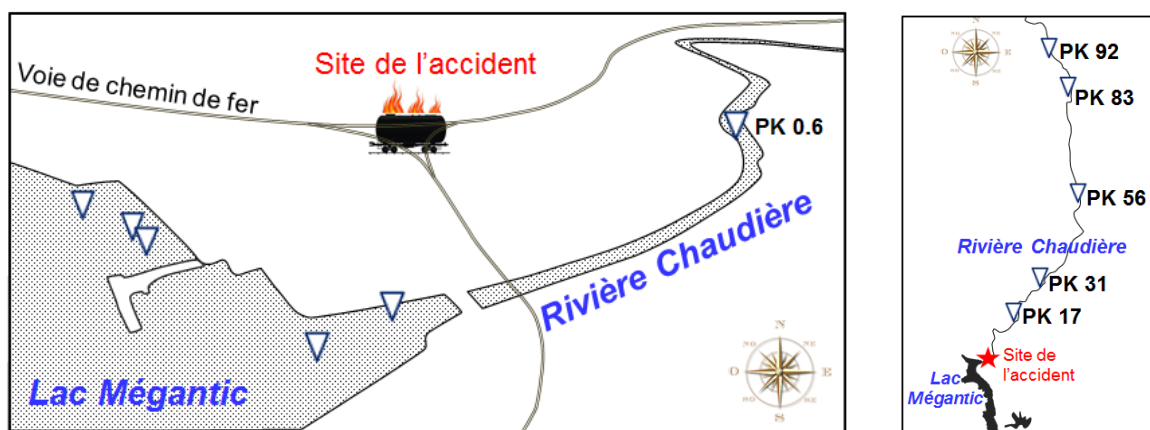


Figure 2.8. Sites de prélèvement de sédiments dans le lac Mégantic et la rivière Chaudière.

Le meunier noir (*Catostomus commersonii*) est une espèce de poisson benthique d'eau douce particulièrement abondante dans le bassin versant de la rivière Chaudière et qui constitue une proie de choix pour de nombreux prédateurs, notamment certains poissons appréciés pour la pêche sportive tels que l'achigan à petite bouche (*Micropterus dolomieu*). Huit spécimens de meunier noir collectés en 2011 dans le Lac-Mégantic ont été utilisés comme référence avant l'accident. L'échantillonnage post-accident a concerné la rivière Chaudière dès Juillet 2013 près du site de l'accident (PK 0,6, $n = 3$) et 93 km en aval (PK 93, $n = 3$). De nouvelles pêches ont été organisées en août 2013 (PK 15–18, $n = 6$), septembre 2013 (Lac-Mégantic, $n = 3$), octobre 2013 (PK 0,6 ; $n = 6$), août 2014 (PK 15–18, $n = 6$) et novembre 2014 (PK 0,6 ; $n = 2$). A noter également que lors de l'échantillonnage d'août 2014, des juvéniles de meunier noir ont été échantillonnés le long de la rivière Chaudière au niveau des PK 8,8 ; 21 ; 30,5 ; 39,8 ; 56 ; 82 et 92,5.

II.2.d. Autres sites d'étude

France métropolitaine et départements d'Outre-Mer

Dans le cadre de la campagne prospective de l'INERIS sur les contaminants émergents, l'effort d'échantillonnage a porté sur les eaux de surface, subdivisées en eaux de rivière ($n = 115$ sites) et lacs ($n = 18$ sites), ainsi que sur les sédiments ($n = 129$ sites), couvrant l'ensemble des territoires des six Agences de l'Eau (Artois-Picardie, Rhin-Meuse, Seine-Normandie, Loire-Bretagne, Adour-Garonne et Rhône-Méditerranée-Corse). Dans le cas des eaux de rivière, l'échantillonnage de l'intégralité des sites a été réalisé à trois reprises : la première campagne en Avril–Juin 2012, la deuxième en Septembre 2012, et la troisième en Novembre–Décembre 2012. Dans le cas des eaux de lacs et des sédiments, une unique campagne d'échantillonnage a été réalisée (Juin 2012 et Août–Novembre 2012, respectivement). Une première classification des sites a été proposée par les Agences de l'Eau par type de pression (agricole, industrielle, urbaine, mauvais état écologique et référence), classification générale que nous avons pu être amenés à modifier pour l'adapter au contexte particulier des PFAS. Ainsi la station de Rhône à Chasse-sur-Rhône a-t-elle été reclassée dans la catégorie des sites à influence industrielle.

Concernant la campagne d'échantillonnage dans les Départements d'Outre-Mer, aux eaux de surface (n = 25 sites, 3 campagnes d'échantillonnage) sont à ajouter les eaux souterraines (n = 40 sites, 2 campagnes d'échantillonnage). L'échantillonnage des sédiments a porté sur la Guadeloupe, la Martinique et la Guyane (n = 15 sites, 1 seule campagne).

Il serait hors de propos de fournir une description détaillée de chacun des sites de ces deux campagnes d'envergure nationale. *A minima*, la distribution spatiale des sites est présentée dans les chapitres **IV.1** et **IV.2**, et la liste complète des sites est indexée dans le matériel supplémentaire associé à ces chapitres.

Milieux côtiers d'Europe de l'Ouest

L'exercice, réalisé dans le cadre du programme ORQUE-SUDOE (Observatoire de Recherche sur la Qualité de l'Environnement du grand Sud-Ouest Européen) portait sur l'analyse d'une part, de matrices de référence (tissus de moules ou d'huîtres) fournies par le NIST (SRM 2976, SRM 2977) ou par l'IRMM (ERM-CE477, ERM-CE278k, BCR-710), et d'autre part, d'homogénats de mollusques prélevés en milieux côtiers. Il s'agit des sites du Bassin d'Arcachon (huîtres sauvages et cultivées, moules sauvages) et du Pertuis Charentais en France (huîtres sauvages et cultivées), d'Urdaibai (huîtres sauvages), d'Ostranor (huîtres cultivées), et du Delta de l'Ebre (huîtres cultivées) en Espagne, et de la Lagune d'Aveiro (huîtres cultivées) et du Delta du Sado (huîtres sauvages) au Portugal (<orque-sudoe.eu/fr/science/echantillonnages>). Les résultats de ces analyses sont fournis en annexes (pages 476–482).

Canada

L'application de la méthode de désorption thermique par diode laser (LDTD), nouvellement développée pour l'analyse des PFAS dans les matrices aqueuses, a porté sur 7 échantillons de stations de traitement des eaux usées (STEP) de villes du Canada (entrée de STEP), 7 échantillons d'eau de surface prélevés au niveau de l'île de Montréal dans le canal Lachine, le fleuve St Laurent ou la Rivière Des Prairies, et 2 échantillons d'eau du robinet des villes de Laval et de Montréal. La localisation et le nom exacts des sites de prélèvement des échantillons d'eau de surface sont indexés dans le matériel supplémentaire associé à ce chapitre.

Terres Australes et Antarctiques Françaises (TAAF)

L'application de la méthode d'extraction sur phase solide en ligne, optimisée et validée pour l'analyse des PFAS dans le plasma d'oiseaux marins, a porté sur 21 échantillons collectés dans les Terres Australes et Antarctiques Françaises avec le concours du Centre d'Etudes Biologiques de Chizé (CEBC). Les échantillons de plasma de manchot royal *Aptenodytes patagonicus* (n = 7) ont été prélevés au niveau de l'île de la Possession (archipel des îles Crozet). Les échantillons de plasma de labbe de McCormick (skua antarctique) *Stercorarius maccormicki* (n = 7) ainsi que ceux de pétrel des neiges *Pagodroma nivea* (n = 7) ont été prélevés sur le continent Antarctique en Terre Adélie. A noter également que dans le cadre d'un autre développement méthodologique (méthode micro-ondes), nous avons utilisé une matrice de muscle de truite commune (*Salmo trutta*) des îles Kerguelen à des fins de validation de méthode du fait des faibles niveaux de PFAS initiaux qui caractérisent cette matrice.

II.3. PRELEVEMENT ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS

II.3.a. Matrices Aqueuses

Les échantillons d'eau sont collectés de la façon suivante : à chaque site d'échantillonnage, les bouteilles de prélèvement en polyéthylène haute densité (1 L) sont rincées à trois reprises avec l'eau de surface du site puis complétées à ras bord, scellées, et placées dans une glacière (5–8 °C), en attente de transfert au laboratoire. Les paramètres physico-chimiques (température, pH, conductivité, salinité) sont mesurés sur le terrain à l'aide d'une mallette multi-paramètres (PFC-Gironde, HALOGIR). A l'arrivée au laboratoire, la filtration de l'eau pour l'analyse des PFAS est effectuée sur des unités en Nalgène et des filtres en fibre de verre GF/F (0.7 µm) préalablement calcinés au pyrolyseur (450°C, 6h), numérotés et pesés. En effet, certaines études ont montré que l'artefact de filtration lié à la rétention des PFAS dissous sur les filtres GF/F était minimisé par rapport à d'autres types de filtres tels que ceux en Nylon ou en polyéther sulfone (Schultz et al., 2006 ; Labadie et Chevreuil, 2011b). Le filtrat est réparti dans deux bouteilles en Nalgène de 0,5 L : une aliquote de sauvegarde, conservée à -20 °C, et une aliquote pour l'analyse des PFAS (dans le cas où l'analyse n'est pas réalisée le jour même, cette aliquote est également congelée). Les filtres sont lyophilisés (-60 °C, 24 h) et pesés après cette opération afin de remonter à la concentration des matières en suspension dans l'eau.

Lorsque cela était possible, l'opération de filtration a été réalisée quelques heures tout au plus après le prélèvement. En effet, des tests préliminaires ont montré que la conservation d'échantillons pendant 24 ou 48 h en chambre froide avant filtration pouvait avoir une influence variable sur les concentrations de PFAS en phase particulaire, alors que les concentrations en phase dissoute restaient globalement comprises entre ± 20 % de la valeur nominale à T_0 (**Figure 2.9**). Dans le cas des projets HALOGIR (chapitre IV.3), PFC-Gironde (suivi Pauillac) (chapitre V.2) et LDTD (chapitre III.3), la filtration des échantillons a donc été réalisée le jour même du prélèvement. Néanmoins, lors de la campagne prospective de l'INERIS (chapitres IV.1 et IV.2), le temps écoulé entre le prélèvement et la réception des échantillons au laboratoire pouvait parfois atteindre entre 2 et 7 jours, notamment pour les Départements d'Outre-Mer. Par conséquent, il a été décidé dans le contexte particulier de ce projet de ne pas conserver les filtres pour l'analyse des PFAS dans les matières en suspension.

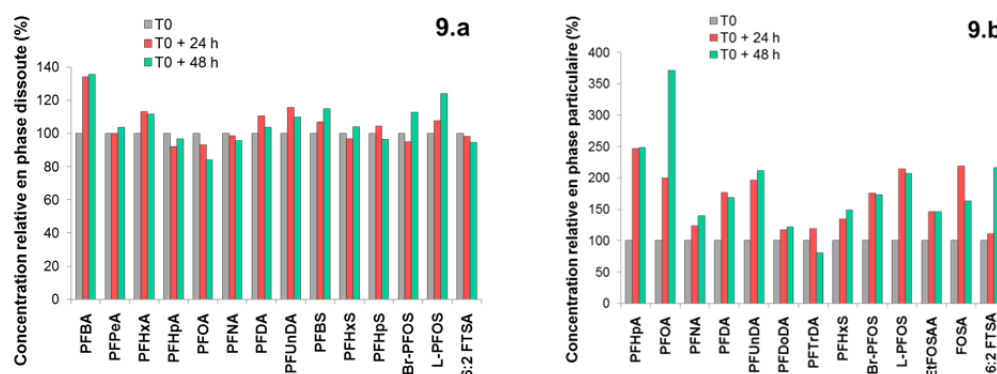


Figure 2.9. Influence de la durée de stockage à 4°C avant l'étape de filtration sur les concentrations relatives en phase dissoute (9.a) et en phase particulaire (9.b) (échantillon non-dopé, prélevé au niveau du site de Pauillac ; base 100 % à T_0).

Un test complémentaire de conservation a été réalisé sur une semaine et en triplicata pour chaque pas de temps (T_0 , $T_0 + 1$ jour, $T_0 + 3$ jours et $T_0 + 7$ jours). L'eau de rivière a été dopée après filtration à 10 ng L^{-1} avec les composés natifs, les étalons internes étant ajoutés en début de protocole d'extraction (après l'étape de conservation, pour ne pas masquer d'éventuelles pertes au cours du stockage). Dans la majorité des cas, les concentrations relatives restent comprises entre $\pm 20 \%$ de la valeur nominale (T_0), sauf pour le PFTeDA pour lequel les concentrations relatives tombent à 52 ± 4 et $53 \pm 3 \%$ après 3 et 7 jours, respectivement, probablement dû à des phénomènes d'adsorption (**Figure 2.10**).

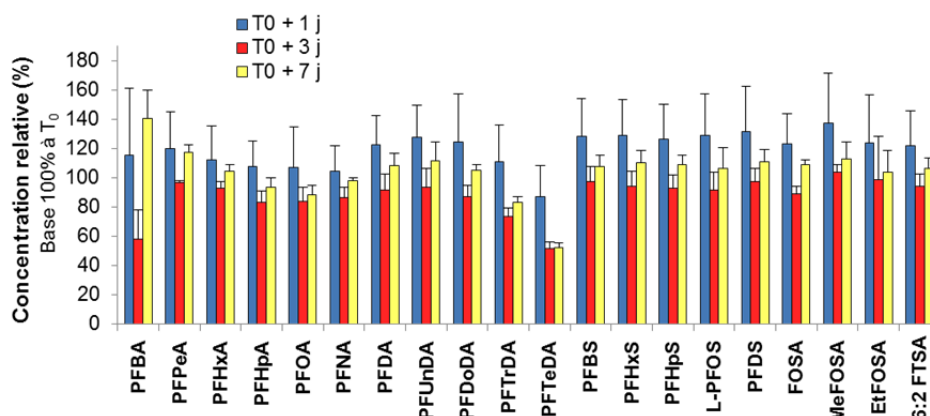


Figure 2.10. Test de stabilité en chambre froide sur une semaine (concentration relative, base 100 % à T_0). L'eau de rivière a été dopée à 10 ng L^{-1} avec les composés natifs et laissée à 4°C pour des durées variables (T_0 , $T_0 + 1$ jour, $T_0 + 3$ jours, $T_0 + 7$ jours). Les étalons internes ont été ajoutés après conservation, juste avant l'étape d'extraction sur phase solide (SPE).

Les échantillons d'eau à analyser dans le cadre de la campagne prospective de l'INERIS étant très nombreux (333 au total pour la métropole, 155 pour les DOM), il s'est typiquement écoulé de quelques jours à plusieurs semaines entre le stockage du filtrat à -20°C et sa décongélation pour extraction et analyse des PFAS. Un test de congélation d'eau de rivière filtrée a donc été réalisé pour évaluer la conservation des analytes lors du stockage : un échantillon a été traité « frais » (extraction réalisée à T_0 , le jour même de la réception) et après 30 jours de congélation à -20°C . Pour la majorité des analytes, les concentrations relatives sont comprises entre -40 et $+13 \%$ de la valeur nominale (T_0), ce qui suggère des pertes lors de l'étape de congélation pour certains analytes.

Lors de la mission HALOGIR, l'eau a été prélevée en sub-surface ($\sim 1 \text{ m}$ de la surface) et au fond ($\sim 1 \text{ m}$ du fond) à l'aide d'une bouteille Niskin (**Figure 2.11**). Pour les raisons précédemment évoquées, la filtration a été réalisée à bord dans les heures suivant l'échantillonnage. Le filtrat et les barquettes contenant les filtres ont été congelés jusqu'au traitement au laboratoire. Pour la détermination du carbone organique dissous (COD), les échantillons d'eau ont été filtrés sur une unité de filtration en verre et le filtrat stocké dans des flacons en verre de 10 mL et conservé à 4°C jusqu'à analyse.



Figure 2.11. Prélèvement d'eau à l'aide d'une bouteille Niskin et filtration à bord (HALOGIR).

II.3.b. Sédiment

L'hétérogénéité des niveaux de contaminants dans les sédiments pour un site donné peut être importante même à faible échelle spatiale, dû aux variations potentielles des caractéristiques du sédiment telle que la granulométrie (ou le taux de carbone organique, qui lui est souvent corrélé). Pour chaque site, le protocole retenu consiste à prélever, en plusieurs points équidistants, quelques dizaines de grammes de sédiment humide (couche supérieure : 1–5 cm de profondeur). L'échantillon ainsi récolté est donc un échantillon « composite » qui peut être jugé comme davantage représentatif de la zone échantillonnée (**Figure 2.12**). Pour chaque site, l'échantillonnage est réalisé avec une cuiller en acier inox et le sédiment stocké dans une barquette en aluminium. Les barquettes sont scellées, identifiées avec le code échantillon, placées dans des pochettes plastiques individuelles, et finalement stockées à 5–8 °C dans une glacière le temps d'être acheminées au laboratoire. Le matériel de prélèvement est nettoyé avec de l'eau Milli-Q et du papier essuie-tout entre chaque site. Dans le cadre de la mission HALOGIR, l'échantillonnage de sédiments subtidaux a été réalisé à l'aide d'une benne Shipeck (**Figure 2.13**). Comme pour les sédiments intertidaux (vasières), l'échantillon est composite pour chaque site (la benne est descendue à 3–4 reprises pour collecter le sédiment)



Figure 2.12. Collecte d'un échantillon composite de sédiment à Talmont-sur-Gironde.

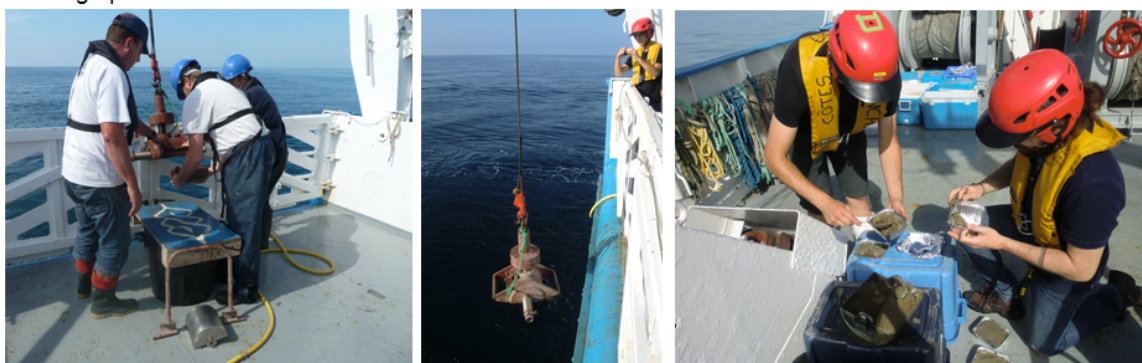


Figure 2.13. Echantillonnage de sédiment en mer avec la benne Shipeck (HALOGIR).

Une première aliquote de sédiment est généralement conservée afin de réaliser les mesures de granulométrie. Pour les analyses de PFAS, la seconde aliquote est successivement congelée, lyophilisée (96–150 h), tamisée (2 mm) et finalement broyée au mortier avant stockage à température ambiante dans des flacons en verre ambré de 125 mL portant le codage échantillon et la date de lyophilisation. A noter que quelques semaines ou mois peuvent s'écouler entre l'étape de mise en flacon et le démarrage de la procédure analytique proprement dite (Cf. **Section II.4**). Par conséquent, les échantillons sont systématiquement agités et ré-homogénéisés avant de procéder à la prise d'essai, car les particules de sédiment peuvent décanter au cours du temps en fonction de leur distribution en taille, ce qui peut à son tour induire une variation considérable des concentrations en analytes (Guide de Qualité CITAC / Eurachem 2002) (ine.fr/publications/eurachem_guide_qualite_fr.pdf). Dans le cas particulier de la campagne prospective de l'INERIS, les échantillons de sédiment pour l'analyse des PFAS ont été conservés à 4°C après lyophilisation et broyage dans des tubes en polyéthylène haute densité de 15 mL.

II.3.c. Matrices biologiques

Dans le cadre du projet PFC-Gironde (Transferts Trophiques), les pêches de poissons ont été réalisées par l'UR ADBX d'IRSTEA (Bordeaux-Cestas). Les captures ont été réalisées par pêche au filet traînant ou par chalutage de fond (Selleslagh et al., 2012). Les poissons sont identifiés et conservés dans la glace jusqu'à leur transfert au laboratoire. Au laboratoire, les poissons sont alors pesés et mesurés, puis disséqués (muscle).

Pour l'autre volet de PFC-Gironde (suivi Pauillac), un filet WP-2 standard de maille 200 µm est déployé le long du ponton extérieur de la marina pendant les deux heures précédant le flot (**Figure 2.14**). Toutes les cinq à dix minutes, le filet est remonté et le collecteur est dévissé afin d'en vider le contenu dans un récipient prévu à cet effet. Le contenu du récipient est alors progressivement versé sur des tamis empilés (mailles : 200, 500 et 2000 µm). Les crevettes blanches, crevettes grises, gammarus, gobies, ainsi qu'une grande partie des mysidacés sont triés à la pince sur le terrain et

stockés dans des tubes centrifuges de 50 mL en polyéthylène. Les autres taxons collectés incidemment (juvéniles de poissons) sont remis à l'estuaire.

Les copépodes sont conservés dans une bouteille de 10 L contenant de l'eau de l'estuaire puis amenés au laboratoire afin de les séparer des particules (Tapie, 2006). Au laboratoire, la prise d'essai est mélangée (1:1 v/v) avec de l'eau minérale Volvic (ajustée à la salinité du milieu afin d'éviter un choc osmotique) dans des béciers de 4 L avec une source lumineuse et un système de bullage (**Figure 2.15**). Après décantation des particules et des animaux morts, le surnageant (contenant les copépodes vivants) est transféré dans des béciers de 4 L propres contenant de l'eau minérale Volvic ajustée à la salinité du milieu. Les copépodes sont laissés pour la nuit dans l'eau claire, passés sur le tamis de 200 μ m, récupérés à l'aide d'une spatule, et stockés dans un Falcon en Nalgène de 15 ou 50 mL selon la prise du jour (**Figure 2.15**).

Photographies Virginie Bocquet Mariange Cornet Gabriel Munoz © 2013



Figure 2.14. Pêche sur le site du ponton extérieur de la marina de Pauillac (PFC-Gironde).

Photographies Virginie Bocquet © 2013/02/22



Figure 2.15. Tri des copépodes au laboratoire (PFC-Gironde).

Dans le cadre du projet en lien avec l'accident de Lac-Mégantic (Québec), plusieurs campagnes d'échantillonnage ont été réalisées en 2013 et 2014 par la firme Golder et Associés ou par le Ministère de l'Environnement, du Développement durable et de la Lutte contre les Changements Climatiques (MDDELCC) ou le Ministère de la Faune, des Forêts et des Parcs (MFFP), à l'aide de sennes, de verveux, de filets expérimentaux, ou par pêche électrique. Les poissons ont été identifiés, mesurés, pesés, et congelés à -25°C. Les échantillons prélevés dans le lac Mégantic en 2011 étaient conservés au CEAEQ (-25°C).

Les échantillons de tissus biologiques sont pesés dans des tubes centrifuge de 50 mL en polypropylène puis congelés à -20°C et lyophilisés (24–72 h). La pesée après l'étape de lyophilisation permet de remonter au taux d'humidité que l'on utilisera pour convertir les teneurs en poids sec en teneurs en poids humide. Les échantillons sont finalement broyés (mortier, broyeur à hélice ou broyeur à billes) afin d'obtenir une poudre homogène.

Dans le cas des échantillons de plasma d'oiseau marins subantarctiques et antarctiques, l'échantillonnage a été réalisé par le CEBC. La prise de sang (1–2 mL) s'effectue au niveau de la veine alaire à l'aide d'une seringue héparinée. Les échantillons sont centrifugés et le plasma transféré dans des tubes eppendorf de 500 µL et stocké à -20°C jusqu'à analyse. En raison de l'éloignement des sites et des rotations limitées du navire de ravitaillement, le prélèvement de l'échantillon et l'analyse au laboratoire sont typiquement espacés de quelques mois. Afin d'évaluer l'impact du stockage sur les concentrations en analytes, nous avons reconstitué une matrice de sérum humain certifiée (NIST SRM 1957) dans de l'eau de qualité HPLC, que nous avons ensuite préparée et analysée dans la foulée (T_0) selon notre procédure d'extraction sur phase solide en ligne (voir **Section II.4**) et après 6 mois de stockage à -20 °C ($T_0 + 6$ mois). Dans les deux cas, les étalons internes ont été ajoutés au début de la procédure de préparation de l'échantillon (juste avant l'extraction) pour ne pas masquer les pertes éventuelles lors du stockage. Les résultats du test de conservation montrent que la congélation est sans effet notable pour la majorité des analytes (**Figure 2.16**).

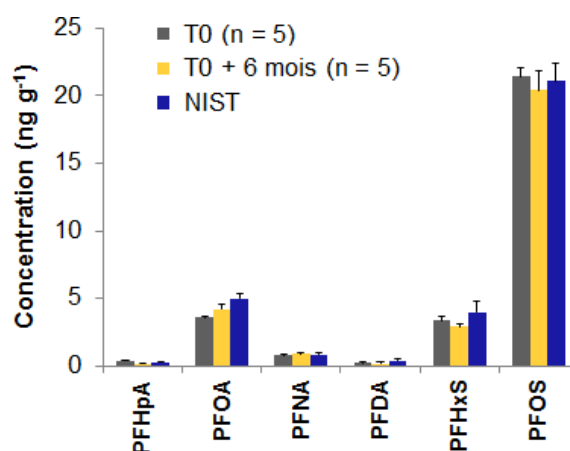


Figure 2.16. Test de conservation pendant 6 mois à -20°C sur une matrice de plasma humain (NIST SRM 1957). Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

II.4. PROTOCOLES DE PREPARATION DES ECHANTILLONS

II.4.a. Phase dissoute

Lorsqu'une étape de congélation a suivi la filtration, les échantillons sont laissés pour la nuit à décongeler avant le démarrage de la procédure d'extraction. Les étalons internes (1 ng de chaque étalon, soit environ 20 mg d'une solution à 50 pg mg⁻¹ dans le méthanol (MeOH)) sont ajoutés par gravimétrie à la prise d'essai (0,5 à 1 L pour les eaux de surface). Le principe de l'extraction sur phase solide (SPE) peut être rapproché de celui de la chromatographie, la cartouche SPE faisant office de phase stationnaire (Hennion, 1999). Il repose donc sur l'affinité des analytes pour une phase solide, préférentiellement à une phase dissoute (en l'occurrence, de l'eau + un faible pourcentage de MeOH). Une résine échangeuse d'anions faible est usuellement utilisée pour l'extraction des PFAS anioniques et neutres (interactions ioniques et/ou hydrophobes) (**Figure 2.17**).

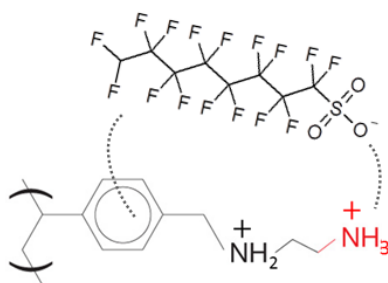


Figure 2.17. Interaction du PFOS avec la phase stationnaire Strata X-AW (préalablement conditionnée) lors de l'étape de chargement.

Les cartouches Strata X-AW (200 mg / 6 mL) sont identifiées (code de l'échantillon, blanc ou test de dopage) et disposées sur une cuve SPE. Les cartouches sont rincées par 2 x 4 mL d'un mélange de MeOH contenant 0,2 % en volume d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH 28–30 %) puis conditionnées par 4 mL d'eau Milli-Q. Après remplissage des cartouches avec 5 mL d'eau Milli-Q, on y connecte les tuyaux de transfert des échantillons à l'aide d'adaptateurs.

Une pompe, reliée à la cuve par l'intermédiaire d'une bouteille de récupération (évacuation de l'eau) et d'une fiole de garde contenant un desséchant (**Figure 2.18**), permet de maintenir un débit autour de 8–12 mL min⁻¹ durant la totalité de la phase d'extraction, garantissant ainsi une meilleure productivité que si l'échantillon s'écoulait par simple gravité.

Après l'étape de chargement, les cartouches sont séchées à l'aide de la pompe (45 min environ) puis centrifugées (3 min, 5000 rpm) afin de contrôler que l'essentiel de l'eau résiduelle a été éliminée. Les flacons de récupération (15 mL) sont positionnés dans la cuve SPE et l'élution des analytes réalisée par 2 x 4 mL de MeOH + NH₄OH 0,2 %. Lors de l'étape d'élution, les ions hydroxyde neutralisent les groupements amines de la phase stationnaire et les PFAS ne sont plus alors retenus que par des interactions hydrophobes ; un solvant organique de pouvoir éluant suffisant permet alors

la récupération des PFAS anioniques et neutres. De même que lors de l'étape de chargement, le débit est contrôlé à l'aide de la pompe. Les éluats sont ensuite concentrés à environ 300 µL sous flux d'azote et léger chauffage (~ 40 °C), transférés dans des flacons d'injections en polypropylène, et conservés à -20°C jusqu'à analyse.



Figure 2.18. Etape de chargement des échantillons d'eau sur les cartouches Strata X-AW.

Dans le cas particulier de l'application LDTD, la validation de la méthode ayant été réalisée sur une matrice complexe (eau usée brute non traitée), le protocole de purification a dû être modifié pour réduire les effets matriciels. L'étape d'élution est réalisée en tandem sur les cartouches Strata X-AW et des cartouches de charbon de noix de coco (procédure de purification adaptée de la méthode EPA 521, dosage de N-Nitrosodiméthylamine dans l'eau potable) (2 g / 6 mL) préalablement conditionnées par 10 mL de méthanol puis connectées directement sous les cartouches Strata X-AW. Les éluats sont ensuite évaporés à sec et repris dans 250 µL d'acétate d'éthyle (EtOAc) afin de favoriser la détection des PFAS (Cf. § II.5.a et chapitre III.3).

II.4.b. Sédiments et MES

L'extraction de PFAS des sédiments et MES a été réalisée par micro-ondes à EPOC et par ultrasons à l'UdeM. Après ré-homogénéisation de la matrice de sédiment (préalablement lyophilisée et broyée), les sédiments sont pesés (~ 1 g de prise d'essai pour les sédiment, et ~ 0,05–2 g pour les MES) dans les cellules d'extraction micro-ondes, ainsi que les étalons internes (environ 1 ng, quantités exactes déterminées par gravimétrie). Un temps d'attente de quelques dizaines de minutes est observé afin de laisser les étalons internes s'équilibrer avec la matrice, puis 10 mL de méthanol sont ajoutés. Les cellules micro-ondes sont scellées puis brièvement vortexées et placées dans le rotor du système micro-ondes Start E (35 positions), ainsi que la cellule de référence munie d'une sonde de température et contenant également 10 mL de méthanol.

A programme de température, type de solvant, et volume de solvant (par échantillon) donnés, la puissance maximum micro-ondes durant les phases de montée en température et de palier est ajustée en fonction du nombre d'échantillons afin d'assurer une montée régulière de la température par rapport à la consigne et d'éviter des variations brutales de la puissance appliquée. Un exemple de profil de puissance et de température pour 5 échantillons contenant chacun 10 mL de solvant est présenté en **Figure 2.19**.

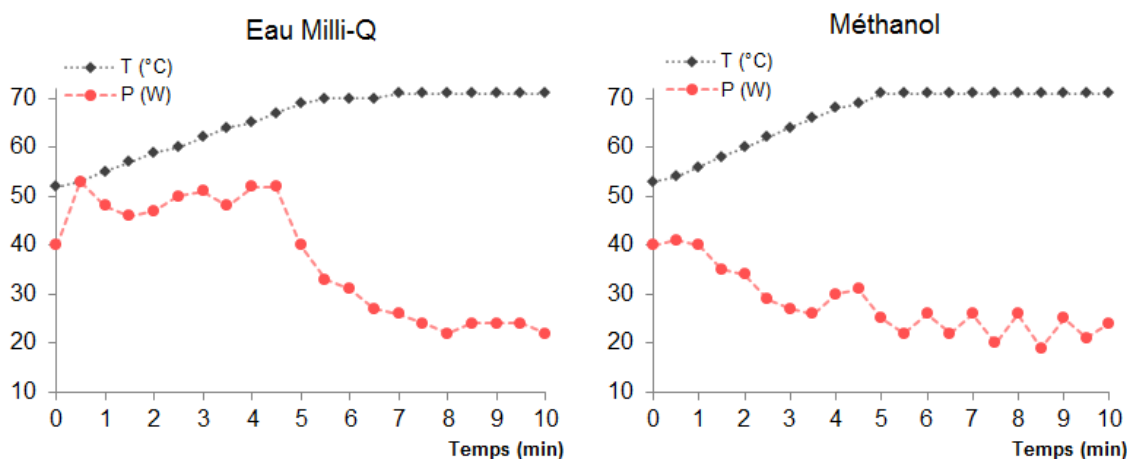


Figure 2.19. Profil de température et de puissance micro-ondes pour 5 échantillons (contenant chacun 10 mL de solvant). Programme : rampe de montée en température jusqu'à 70 °C (5 min) et palier à 70 °C (5 min).

Le programme appliqué aux échantillons est le suivant : après 5 minutes de montée en température (température de consigne : 70 °C), la température est maintenue à 70°C pendant 5 minutes. A la fin du programme de chauffe, un temps d'attente de 10 minutes est observé afin de laisser le solvant redescendre en température.

Les extraits sont filtrés sur du coton en fibre de verre (préalablement nettoyé au méthanol et séché) et concentrés à environ 2 mL sous flux d'azote (~ 40 °C). Les extraits sont passés sur des cartouches graphite (ENVI-Carb, 250 mg / 6 mL) préalablement conditionnées par 5 mL de méthanol. Les cartouches sont rincées avec 5 mL de méthanol et les éluats reconcentrés à environ 300 µL sous flux d'azote (~ 40 °C), transférés dans des flacons d'injections en polypropylène, et conservés à -20°C jusqu'à analyse.

Dans le cadre d'un développement méthodologique ultérieur visant à analyser des PFAS de polarités variées, le solvant d'extraction a été légèrement modifié (MeOH contenant 20 mmol L⁻¹ d'hydroxyde de sodium (NaOH)) afin de permettre l'extraction quantitative des PFAS cationiques et zwitterioniques par ultrasons (Cf. protocole détaillé au chapitre VI.1).

II.4.c. Matrices biologiques

L'extraction de PFAS des matrices biologiques solides a été réalisée par micro-ondes au LPTC et par ultrasons à l'UdeM, avec un solvant organique (éthanol ou méthanol). Les techniques d'extraction de PFAS anioniques et neutres dans les tissus de poisson et dans le plasma d'oiseaux marins ont été l'objet de développements méthodologiques spécifiques (Cf. chapitres III.1 et III.2).

Tissus biologiques

Dans le cas de la méthode d'extraction micro-ondes des PFAS anioniques et neutres dans les tissus biologiques, la méthode préexistante était basée sur une extraction identique à celle des sédiments (10 mL de MeOH, $T = 70\text{ }^{\circ}\text{C}$, $t = 10\text{ min}$), et sur un protocole de purification sur Strata X-AW, l'étape d'élution étant réalisée à travers des cartouches graphite directement connectées sous les cartouches Strata (élution « tandem ») avec deux solvants successifs : i) MeOH et ii) MeOH + 0,2% NH_4OH (séparation des extraits en 2 fractions contenant respectivement les analytes neutres et anioniques). D'autres configurations plus simples ont été testées afin d'alléger le protocole (temps de concentration et d'analyse élevés du fait de la séparation des échantillons en deux fractions distinctes) et sont décrites et commentées au chapitre III.1. Nous nous contenterons ici de détailler le protocole finalement retenu.

Les tissus lyophilisés et broyés sont pesés (~ 250 mg de prise d'essai) dans les cellules micro-ondes et les étalons internes sont ajoutés (environ 2 ng, quantités exactes déterminées par gravimétrie). Après un temps d'attente de quelques dizaines de minutes, le solvant retenu est ajouté (10 mL d'éthanol (EtOH)), les cellules sont brièvement passées au vortex, et placées dans le système micro-ondes (Start-E) ainsi que la cellule de référence munie d'une sonde de température et contenant également 10 mL d'EtOH. La nature du solvant, le volume de solvant, la température d'extraction, et la durée d'extraction choisis pour la méthode sont justifiés au chapitre III.1. Le programme appliqué aux échantillons est le suivant : après 5 minutes de montée en température (température de consigne : $100\text{ }^{\circ}\text{C}$), la température est maintenue à $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 5 minutes. A la fin du programme de chauffe, un temps d'attente minimum de 10 minutes est observé afin de laisser le solvant redescendre en température. La température de consigne étant plus importante que pour l'extraction micro-ondes des échantillons de sédiment précédemment décrite, il est impératif de respecter ce délai (risque de projection de solvant). Les extraits sont filtrés sur du coton en fibre de verre (préalablement nettoyé au méthanol et séché) et concentrés à environ 0,7 mL sous flux d'azote (~ $40\text{ }^{\circ}\text{C}$). Les extraits sont dilués dans environ 50 mL d'eau Milli-Q et déposés sur des cartouches Strata X-AW (200 mg / 6 mL) préalablement rincées par 2 x 4 mL de MeOH + NH_4OH 0,2 % et conditionnées par 5 mL d'eau Milli-Q. Après l'étape de chargement, les cartouches sont séchées sous vide à l'aide d'une pompe (45 min) et centrifugées (3 min, 5000 rpm). Les analytes sont élués par 2 x 4 mL de MeOH + NH_4OH 0,2 %, les éluats traversant simultanément les cartouches graphites (ENVI-Carb, 250 mg / 6 mL) (préalablement conditionnées par 5 mL de MeOH) connectées sous les

cartouches Strata X-AW. Les extraits sont reconcentrés à environ 300 µL sous flux d'azote (~ 40 °C), transférés dans des flacons d'injections en polypropylène, et conservés à -20°C jusqu'à analyse.

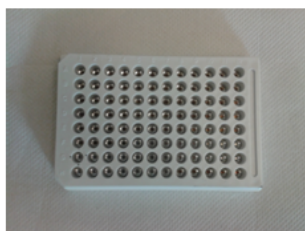
Plasma / sérum

Concernant la méthode de préparation des échantillons de plasma, les conditions de préparation et d'extraction ont été optimisées et sont discutées plus en détail au chapitre III.2. Après décongélation des échantillons de plasma à température ambiante, une aliquote de 25 µL est pesée (~ 25 mg) dans des eppendorfs de 2 mL (polypropylène), ainsi que les étalons internes (environ 30 pg pour chaque analyte, quantité exacte déterminée par gravimétrie). L'ajout de 100 µL d'acétonitrile (ACN) aux extraits permet de faire précipiter les protéines, qui sont séparées du mélange par centrifugation (24 000 x g, 10 min). Le surnageant est transféré dans des tubes de 2 mL en polypropylène dotés de filtres nylon (0,22 µm), permettant une filtration centrifuge (7 000 g, 3 min) et les extraits clarifiés sont finalement transférés dans des flacons d'injection en verre de 2 mL. Les extraits sont dilués par 675 µL d'eau HPLC, brièvement passés au vortex, et concentrés par extraction sur phase solide en ligne (SPE en ligne) : le volume de chargement a été fixé à 400 µL d'extrait qui sont déposés à 600 µL min⁻¹ sur une cartouche Oasis HLB en ligne (10 x 2 mm, d_p = 25–35 µm). Après l'étape de chargement en ligne, la vanne commute et les analytes sont élués en sens inverse et transférés vers la colonne analytique (Cf. chapitre III.2).

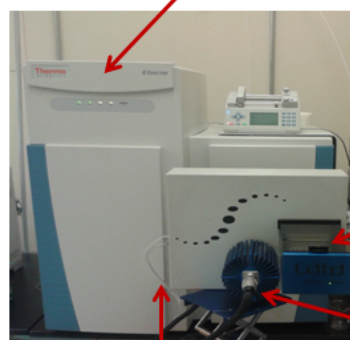
II.5. ANALYSE INSTRUMENTALE ET QUANTIFICATION

II.5.a. Désorption thermique par diode laser couplée à la spectrométrie de masse

La technique d'introduction de l'échantillon par désorption thermique par diode laser (LDTD) proposée par Phytronix Technologies (Québec, Canada) est relativement récente (Picard et al., 2008). Couplée à une source d'ionisation chimique à pression atmosphérique (LDTD/APCI) et à la spectrométrie de masse, elle s'est révélée compatible avec l'analyse quantitative de composés présents à l'état de traces, pour des applications notamment dans le domaine environnemental ou biomédical (Fayad et al., 2010 ; Segura et al., 2010 ; Heudi et al., 2011 ; Boisvert et al., 2012 ; Jourdil et al., 2013 ; Roy-Lachapelle et al., 2014 ; Sollicec et al., 2014). Lors de l'analyse par LDTD, quelques microlitres d'extrait (1–10 µL) sont déposés dans l'un des 96 puits de la plaque analytique (**Figure 2.20**). Après évaporation du solvant, la plaque analytique est chargée dans l'échantillonneur. La plaque est identifiée (lecture du code-barres) et positionnée automatiquement devant le laser (un cadre mobile selon l'axe X-Y déplace la plaque entre chaque analyse). À l'inverse de la technique de MALDI (désorption-ionisation laser assistée par matrice), le laser n'entre jamais en contact direct avec l'échantillon. Un cylindre en quartz (tube de transfert) vient sceller le puits et le laser infra-rouge (980 nm, 20 W) impacte l'arrière du puits, provoquant la désorption rapide des analytes sous l'effet de la chaleur. Le gaz vecteur (air) entraîne les analytes gazeux à travers le tube de transfert vers l'aiguille corona de la source APCI où ils seront ionisés avant leur transfert vers l'entrée du spectromètre de masse (**Figure 2.20**).

20.a

Plaque analytique en polypropylène
96 puits (acier inox)

20.b

Spectromètre de masse
Q-Exactive Orbitrap

Compartiment de
chargement des plaques
(960 échantillons)

Laser

Ligne d'arrivée du gaz vecteur

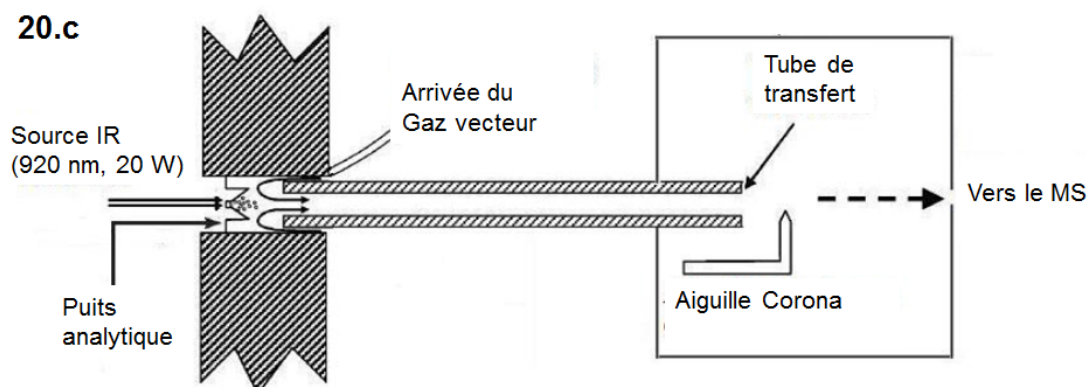
20.c

Figure 2.20. Désorption thermique par diode laser couplée à une source d'ionisation chimique à pression atmosphérique et à un spectromètre de masse (LDTD/APCI-MS). **20.a** : plaque analytique 96 puits ; **20.b** : Interface LDTD/APCI connectée à un spectromètre de masse Q-Exactive Orbitrap ; **20.c** : Schéma de fonctionnement de l'interface LDTD/APCI (d'après Lemoine, 2010).

Parmi les principaux paramètres LDTD à optimiser figurent donc la nature du solvant contenant les analytes solubilisés, le volume d'échantillon déposé, le débit de gaz vecteur, et les paramètres du laser, dont la puissance maximale appliquée et la forme du patron laser (rampe d'élévation de la puissance, durée de maintien à puissance constante, rampe de diminution de la puissance). Concernant l'analyse des PFAS par LDTD/APCI-MS, l'optimisation de ces paramètres est discutée au chapitre III.3 ; nous détaillons ci-après la méthode finalement retenue. Après extraction et purification (Cf. § II.4.a), les échantillons sont évaporés à sec et reconstitués dans 250 μL d'EtOAc. Les échantillons sont déposés dans les puits de la plaque analytique (volume de dépôt : 7 μL) et celle-ci est placée dans un four (40°C) pendant quelques minutes afin d'éliminer le solvant. Après chargement de la plaque dans l'échantillonneur (position verticale) et positionnement de celle-ci devant le laser, le programme suivant est appliqué : rampe de montée en puissance du laser de 0 à 70 % (2 secondes), maintien de la puissance de 70 % pendant 0,1 seconde et retour à 0 % (0,2 seconde). Le débit de gaz vecteur a été fixé à 2 L min^{-1} .

Avec cette méthode, le temps d'analyse par échantillon est de 9 secondes et le temps total entre deux analyses consécutives d'environ 20 secondes, soit cinquante à cent fois plus rapide que

les techniques d'introduction de l'échantillon par chromatographie liquide (en couplage avec une ionisation électrospray) qui sont traditionnellement employées pour l'analyse des PFAS. Autre avantage de taille de la LDTD, le fait de contourner l'étape de chromatographie permet des économies de solvant non-négligeables (phases mobiles) et diminue le risque de contamination lors de l'introduction de l'échantillon (PFAS provenant des phases mobiles ou des tubulures du système LC par relargage).

Par contre, l'absence de séparation chromatographique implique des risques d'effets matriciels accrus même avec la source d'ionisation APCI, ce que nous avons pu constater pour des matrices liquides complexes (ex : eau brute en entrée de STEP) et qui nous a conduit à modifier le protocole de préparation des échantillons (Cf. § II.4.a et chapitre III.3). En outre, comparée à une méthode d'analyse par LC-ESI-Orbitrap (méthode LC adaptée de Labadie et Chevreuil, 2011a,b), la méthode LDTD/APCI-Orbitrap-MS optimisée est moins sensible (limites de détection ~ 10–100 fois plus hautes) et ne permet pas de séparer les isomères. Dans le cas du PFOS par exemple, c'est donc la somme des isomères ramifiés (Br-PFOS) et de l'isomère linéaire (L-PFOS) qui a été analysée.

Au cours de tests préliminaires, l'interface LDTD/APCI a été couplée d'une part à un spectromètre de masse triple quadripôle (QqQ) (Thermo Finnigan TSQ Quantum Ultra) et d'autre part à un spectromètre de masse haute résolution (Thermo Q-Exactive Orbitrap). Un des inconvénients du couplage LDTD/APCI avec le QqQ réside dans le fait que seul un nombre limité de transitions peut être suivi simultanément afin de garantir un nombre minimum de points par pic, problème qui ne se posait pas lors du couplage avec le Q-Exactive Orbitrap (en mode full scan MS) (**Figure 2.21**). Par ailleurs, le mode full scan MS simple sur QqQ n'est pas assez spécifique pour analyser les PFAS avec la LDTD, raison ayant conduit au choix du couplage avec le Q-Exactive Orbitrap. Toutefois, les deux appareils étant de générations différentes, il est difficile d'en tirer des conclusions générales, et la méthode d'analyse des PFAS par LDTD/APCI serait probablement également transposable à des technologies de QqQ plus récentes.

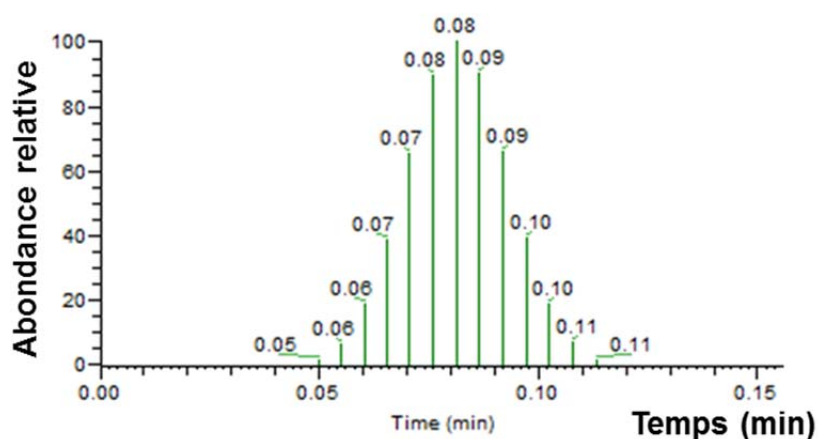


Figure 2.21. Signal du PFOS (m/z théorique = 498.93126 ; m/z observé à 0.08 min = 498.93106) par LDTD/APCI-Orbitrap-MS (mode full scan MS) pour un échantillon d'eau de surface du Parc de la Pointe-aux-Trembles (île de Montréal, Québec, Canada).

Au sortir de l'interface LDTD/APCI, les analytes ionisés sont accélérés et focalisés après le capillaire de transfert au niveau des lentilles de focalisation (S-lens) puis filtrés en masse par le quadripôle. En mode full scan MS, la plage qui a été retenue pour l'analyse des PFAS par LDTD/APCI est de 210–915 m/z (rapport masse sur charge). Les analytes pénètrent dans un piège (C-trap) dont nous pouvons contrôler le temps d'ouverture maximum et la capacité, puis envoyés dans l'analyseur Orbitrap, électrode creuse qui en contient une autre en forme de fuseau, et qui va permettre la séparation des ions (oscillation et rotation autour de l'électrode centrale). Le signal est enregistré sous la forme d'un courant induit ; la somme des différents ions présents dans l'Orbitrap générant un signal complexe, une opération de transformée de Fourier permet de remonter aux fréquences et, *in fine*, aux valeurs de m/z. Pour l'analyse des PFAS, l'optimisation des paramètres de masse a conduit au choix d'une résolution de 70 000, d'un temps maximum d'ouverture de la trappe de 50 ms, et d'une capacité maximale (AGC : automatic gain control) de $5 \cdot 10^6$ (chapitre III.3).

II.5.b. Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse en tandem, couplée à une technique d'introduction de l'échantillon par chromatographie liquide et ionisation électrospray (LC/ESI-MS/MS) est la technique la plus couramment utilisée pour l'analyse des PFAS dans les matrices environnementales (Villagrasa et al., 2006 ; Valsecchi et al., 2013).

Au LPTC, la méthode d'analyse préexistante faisait intervenir une chaîne LC Agilent 1200 et un spectromètre de masse Agilent 6460 triple quadripôle (Agilent Technologies, Massy, France) muni d'une source ESI (mode négatif pour l'analyse des PFAS anioniques). Le passeur automatique prélève 5 μL d'extrait qui sont entraînés par la phase mobile vers la colonne analytique où les analytes seront séparés. En fonction de leur affinité pour la phase stationnaire et la phase mobile (dont on fait varier la composition au cours du temps), les analytes auront des temps de séjour médians dans la colonne analytique différents et donc, *in fine*, des temps de rétention différents. La colonne analytique choisie est une colonne C_{18} (Agilent Zorbax Eclipse Plus ; 100 x 2,1 mm ; $d_p = 1,8 \mu\text{m}$), comprenant un garnissage de billes de silice poreuses sur lesquelles sont greffés des groupements octadécylsilane. La colonne est placée dans un compartiment thermostaté (température fixée à 35°C). En début de gradient chromatographique, le pourcentage de solvant organique dans la phase mobile est faible et les PFAS sont retenus en tête de colonne (interactions hydrophobes). La pompe binaire assure un débit constant de 0,5 mL min^{-1} de phase mobile, qui comporte deux voies : la phase aqueuse (voie A), de l'eau Milli-Q contenant $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ d'acétate d'ammonium ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$), et la phase organique (voie B), mélange d'acétonitrile et d'eau Milli-Q (95:5) (v/v) contenant également $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{CH}_3\text{COONH}_4$. Le gradient de phase mobile suivant est appliqué : maintien de la composition initiale (80 % de A, 20 % de B) pendant 0,6 minutes (0–0,6 min), augmentation progressive du pourcentage de B jusqu'à 100 % (0,6–9,5 min), maintien à 100% de la voie B pendant 2 minutes (9,5–11,5 min), retour à la composition initiale (80 % de A, 20 % de B) (11,5–12 min), et maintien de cette composition pendant 3,5 minutes (12–15,5 min) permettant le rééquilibrage de la colonne à la pression initiale ($\sim 500 \text{ bar}$). Les PFAS à chaîne perfluoroalkyle courte sont élués les

premiers du fait de leur caractère hydrophobe moins prononcé ; ils ne nécessitent donc pas un pourcentage de solvant organique très élevé pour être entraînés par la phase mobile, contrairement aux PFAS à chaîne perfluoroalkyle plus longue. Les ions ammonium NH_4^+ peuvent former des complexes avec les PFAS anioniques, ce qui minimise probablement les interactions avec les silanols résiduels et améliore la qualité chromatographique. Il est important de noter qu'une colonne Zorbax SB C₁₈ (30 x 2,1 mm ; $d_p = 3,5 \mu\text{m}$) a été ajoutée en sortie de phase aqueuse (juste avant la chambre de mélange des voies) afin de piéger les PFAS qui pourraient provenir de la voie A. Un préfiltre est monté en amont de la colonne analytique afin de la protéger contre les risques de colmatage ; ce préfiltre est changé systématiquement avant chaque nouvelle séquence d'analyse. Le contrôle de la pression en tête de colonne en condition standard (gradient initial, 35°C, 0,5 mL min⁻¹) et de la forme des pics chromatographiques avant chaque séquence d'analyse permet de s'assurer du bon état de la colonne analytique.

Dans le cas particulier de l'analyse par SPE en ligne, la colonne analytique diffère de celle décrite dans le paragraphe précédent par la taille et la nature des particules (Agilent C₁₈ Poroshell, 100 x 2,1 mm, $d_p = 2,7 \mu\text{m}$) et le débit de phase mobile et la température du compartiment colonne ont été modifiés (0,3 mL min⁻¹ et 40°C, respectivement). Autre différence notable, une colonne de garde (Agilent Poroshell 120 SB C₁₈, 5 x 2,1 mm, $d_p = 2,7 \mu\text{m}$) a été montée entre le préfiltre et la colonne analytique afin d'en étendre la durée de fonctionnement.

Pour la spectrométrie de masse, l'échantillon liquide doit être nébulisé, ce qui est accompli par la technique de l'électrospray (ESI) où de fines gouttelettes sont formées entre un capillaire métallique et une contre-électrode portée à un potentiel de quelques kV (en mode négatif dans notre cas). Un courant d'azote chauffé à haute température conduit à l'évaporation du solvant des gouttelettes ; leur densité de charge dépassant la charge critique, elles finissent par exploser (explosion coulombienne), libérant des ions non fragmentés et déprotonés $[\text{M-H}]^-$ en phase gazeuse, qui sont guidés de la chambre d'ionisation vers le bouclier et le 'skimmer', avant de traverser un capillaire hexabore en verre. La source ESI est utilisée en mode négatif pour l'analyse des PFAS anioniques et neutres, et les paramètres de la source ont été optimisés préalablement, incluant la pression de nébulisation (60 psi), la température et le débit du gaz nébulisant (320°C, 8 L min⁻¹), et la température et le débit du gaz gainant (350°C, 12 L min⁻¹). Aucune tension n'est appliquée au niveau du skimmer.

Le premier quadripôle filtre les ions parents des analytes d'intérêt, qui vont traverser une section hyperbolique définie par 4 électrodes métalliques parallèles (raccordées deux à deux) par le jeu des tensions appliquées. Le deuxième quadripôle désigne en réalité une chambre de collision dans laquelle les ions parents sont dissociés en ions fils. L'énergie de collision à appliquer pour former les ions fils doit donc être optimisée ; seuls les deux fragments les plus intenses seront suivis, correspondant aux transitions de quantification (Q) et de confirmation (C). Le troisième quadripôle opère la sélection de ces deux fragments d'intérêt. Dans le cas du PFOS par exemple, la transition de quantification correspond à la réaction de fragmentation 498,9 → 79,9 (mécanisme supposé : rupture homolytique de la chaîne perfluoroalkyle avant le groupement sulfonate pour former un fragment SO_3^-), et celle de confirmation à la réaction 498,9 → 99,9 (formation d'un fragment FSO_3^-). La liste complète des transitions et l'énergie de collision associée est fournie en annexe du chapitre **IV.1**.

Le temps de cycle a été fixé à 800 millisecondes ; le balayage des différentes transitions se fait séquentiellement au cours de ce cycle. Lorsque le nombre de transitions suivies séquentiellement au cours d'un même cycle est important, le temps alloué à chaque transition au cours du cycle est faible, ce qui peut avoir un impact négatif sur la sensibilité de la méthode et sur la répétabilité du signal. Afin de limiter le nombre de chevauchements, la fenêtre d'acquisition des transitions de chaque composé a été limitée à $\pm 1,25$ min autour du temps de rétention attendu (**Figure 2.22**), ce qui est suffisant même en cas de fluctuation éventuelle du temps de rétention au cours de la séquence.

Au sortir du troisième quadripôle, les ions fils transmis percutent une dynode, ce qui conduit indirectement à la libération d'électrons qui sont dirigés vers un amplificateur de signal. Toutes les molécules d'un même ion parent n'ayant pas eu exactement le même parcours dans la colonne chromatographique, on observe un étalement de la réponse des ions fils en fonction du temps qui prend la forme d'un pic chromatographique (**Figure 2.22**).

A noter qu'en cours de thèse un nouveau système LC-MS/MS est venu compléter le parc analytique du LPTC (spectromètre de masse Agilent 6490 triple quadrupole et chaîne Agilent LC 1290). La méthode de chromatographie pour l'analyse des PFAS a été transposée de manière identique et un plan expérimental a été réalisé (quantité injectée ~ 5 pg pour chaque PFAS) afin d'optimiser les paramètres suivants : tension d'accélération (CAV) (4–7 V), tension du skimmer (nozzle V) (0–2000), pression de nébulisation (40–60 psi), température du gaz de nébulisation (200–320 °C), et température de gaz gainant (200–350 °C). Les meilleures limites de détection étaient généralement obtenues avec les conditions de la méthode préexistante, qui ont donc été conservées pour le nouveau système. Par ailleurs, l'optimisation des paramètres de masse a conduit au choix des nouvelles énergies de collision pour les transitions Q et C des PFAS (Cf. annexes du chapitre III.2).

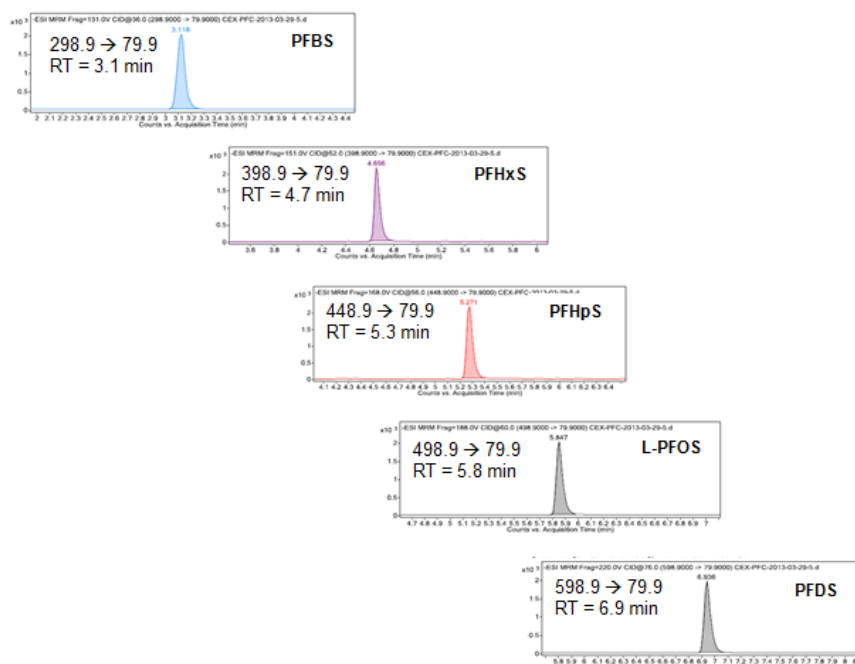


Figure 2.22. Illustration des chromatogrammes des transitions de quantification (Q) des perfluoroalkyl sulfonates sur leur plage d'acquisition (LC-ESI-MS/MS, Agilent 6460 QqQ).

Pour le développement de la méthode d'analyse par LC/ESI-Orbitrap-MS (chapitre **VI.1**), les paramètres de masse sont basés sur l'optimisation réalisée lors du premier séjour à l'UdeM (chapitre **III.3**), à l'exception de la gamme de masse balayée en mode full scan MS qui a été élargie (150–1000 m/z). Une optimisation rapide de la méthode chromatographique a été conduite (phases mobiles, volume d'injection) puisque nous souhaitons inclure des analytes de polarités variées dans cette méthode. La source d'ionisation par électrospray est opérée en mode d'inversion rapide de polarité, rendant possible l'acquisition simultanée du signal correspondant aux PFAS anioniques, zwitterioniques et cationiques (Cf. chapitre **VI.1**).

Un résumé des temps de rétention pour chacune des méthodes analytiques utilisées est fourni dans le **Tableau 2.2**. Concernant la chromatographie liquide, il faut garder à l'esprit que ces valeurs ne sont données qu'à titre indicatif, car au cours des injections successives les courbes de pression du système peuvent se décaler progressivement (notamment en fin de vie de la colonne analytique), ce qui peut induire à son tour des décalages de temps de rétention. Le cas échéant, les plages d'acquisition des transitions Q et C indiquées dans la méthode doivent donc être modifiées en conséquence pour que les pics chromatographiques restent centrés sur le temps de rétention dans la fenêtre d'acquisition.

Tableau 2.2. Temps de rétention (min) des composés natifs étudiés.

MS	LC-ESI-MS/MS	SPE en ligne	LC-ESI-MS
	QqQ (6460 ou 6490)	QqQ (6490)	Orbitrap
PFBA	1,1	NA	2,5
PFPeA	2,2	2,1	4,1
PFHxA	3,1	2,9	5,0
PFHpA	3,8	3,6	5,7
PFOA	4,5	4,1	6,3
PFNA	5,1	4,5	6,8
PFDA	5,6	4,9	7,3
PFUnDA	6,1	5,3	7,8
PFDoDA	6,7	5,6	8,3
PFTTrDA	7,2	6,0	8,7
PFTeDA	7,7	6,3	9,1
PFHxDA	NA	NA	9,7
PFOcDA	NA	NA	10,2
PFBS	3,1	2,9	5,0
PFHxS	4,7	4,1	6,4
PFHpS	5,3	4,5	NA
PFOS	5,8	4,9	7,4
PFDS	6,9	5,6	8,4
MeFOSAA	5,7	5,5	NA
EtFOSAA	6,0	5,7	NA
FOSA	7,8	7,2	8,6
MeFOSA	9,3	7,8	NA
EtFOSA	9,6	8,0	NA
4:2 FTSA	2,8	2,8	NA
6:2 FTSA	4,2	3,9	6,0
8:2 FTSA	5,5	4,7	NA
6:2 FTUCA	NA	NA	7,4
8:2 FTUCA	NA	NA	8,6
5:3 FTCA	NA	NA	7,3
7:3 FTCA	NA	NA	8,4
6:2 diPAP	7,4	6,7	NA
8:2 diPAP	9,1	8,0	NA
diSAmPAP	9,8	8,5	NA
PFOAB	NA	NA	6,4
PFOSB	NA	NA	7,3
PFOANO	NA	NA	6,6
PFOSNO	NA	NA	7,5
PFOAAmS	NA	NA	6,5
PFOSAmS	NA	NA	7,5
PFOSAm	NA	NA	7,5

II.5.c. Quantification par dilution isotopique

La quantification des analytes a été réalisée par dilution isotopique. Le principe de cette méthode consiste à ajouter à l'échantillon des quantités connues de composés de référence (étalons internes) qui ne sont pas initialement présents dans l'échantillon et dont la structure est (idéalement) proche de celle des analytes que l'on cherche à quantifier.

Dans le cadre de ces travaux de thèse, entre 9 et 14 étalons internes (PFAS comprenant un marquage isotopique ^{13}C , ^{18}O ou D, *Wellington Laboratories*) ont donc été utilisés (**Tableau 2.3**). La pureté chimique de ces étalons isotopiquement marquée était supérieure à 98 %, et la pureté isotopique supérieure à 99 % par ^{13}C et supérieure à 94 % par ^{18}O .

Tableau 2.3. Liste des étalons internes utilisés.

Etalon interne	Acronyme
[1,2,3,4- $^{13}\text{C}_4$] PFBA	MPFBA
[1,2- $^{13}\text{C}_2$] PFHxA	MPFHxA
[1,2,3,4- $^{13}\text{C}_4$] PFOA	MPFOA
[1,2,3,4- $^{13}\text{C}_4$] PFNA	MPFNA
[1,2- $^{13}\text{C}_2$] PFDA	MPFDA
[1,2- $^{13}\text{C}_2$] PFUnA	MPFUnA
[1,2- $^{13}\text{C}_2$] PFDoA	MPFDoA
[1,2- $^{13}\text{C}_2$] PFTeDA	MPFTeDA
Sodium [$^{18}\text{O}_2$] $^{16}\text{O}^-$ PFHxS	MPFHxS
Sodium [1,2,3,4- $^{13}\text{C}_4$] PFOS	MPFOS
D ₃ -N-MeFOSAA	D-N-MeFOSAA
[$^{13}\text{C}_8$] FOSA	MFOSA
D ₃ -N-MeFOSA	D-N-MeFOSA
D ₅ -N-EtFOSA	D-N-EtFOSA
Sodium [1,2- $^{13}\text{C}_2$] 6:2 FTSA	M-6:2 FTSA
Sodium [Bis-(1,2)- $^{13}\text{C}_2$] 6:2 diPAP	M-6:2 diPAP

La correspondance entre chaque analyte et l'étalon interne qui lui est associé est détaillée au **Tableau 2.4** en page suivante.

Le principe de l'étalonnage interne repose sur le calcul du coefficient de réponse relatif ($K_{x/IS}$) de chaque analyte par rapport à son étalon interne. Une première méthode de calcul relativement simple du coefficient $K_{x/IS}$ consiste à analyser une solution diluée contenant des concentrations connues d'analytes (C_x) et d'étalons internes (C_{IS}). Le coefficient $K_{x/IS}$ se détermine alors selon l'expression suivante :

$$K_{x/IS} = (A_x / A_{IS}) / (C_x / C_{IS})$$

Relation qui peut s'écrire également en se référant aux masses d'analytes (m_x) et d'étalons internes (m_{IS}) contenues dans le mélange :

$$K_{x/IS} = (A_x / A_{IS}) / (m_x / m_{IS})$$

Tableau 2.4. Etalons internes associés aux composés natifs étudiés.

	LDTD/APCI-MS	LC-ESI-MS/MS	SPE en ligne LC-ESI-MS/MS	LC-ESI-MS
	Orbitrap	QqQ (6460 ou 6490)	QqQ (6490)	Orbitrap
PFBA	MPFBA	MPFHxA	NA	MPFBA
PFPeA	MPFBA	MPFHxA	MPFHxA	MPFBA
PFHxA	MPFHxA	MPFHxA	MPFHxA	MPFHxA
PFHpA	MPFOA	MPFOA	MPFOA	MPFOA
PFOA	MPFOA	MPFOA	MPFOA	MPFOA
PFNA	MPFNA	MPFOA	MPFOA	MPFNA
PFDA	MPFDA	MPFDA	MPFDA	MPFDA
PFUnDA	MPFUnDA	MPFUnDA	MPFUnDA	MPFUnDA
PFDoDA	MPFDoDA	MPFDoDA	MPFDoDA	MPFDoDA
PFTTrDA	MPFDoDA	MPFDoDA	MPFDoDA	MPFDoDA
PFTeDA	MPFDoDA	MPFTeDA	MPFTeDA	MPFDoDA
PFHxDA	MPFDoDA	NA	NA	MPFDoDA
PFOcDA	MPFDoDA	NA	NA	MPFDoDA
PFBS	MPFHxS	MPFHxS	MPFHxS	MPFHxS
PFHxS	MPFHxS	MPFHxS	MPFHxS	MPFHxS
PFHpS	NA	MPFOS	MPFOS	NA
PFOS	MPFOS	MPFOS	MPFOS	MPFOS
PFDS	MPFOS	MPFOS	MPFOS	MPFOS
MeFOSAA	NA	D-N-MeFOSAA	D-N-MeFOSAA	NA
EtFOSAA	NA	D-N-MeFOSAA	D-N-MeFOSAA	NA
FOSA	X	MFOSA	MFOSA	MPFOS
MeFOSA	NA	D-N-MeFOSA	D-N-MeFOSA	NA
EtFOSA	NA	D-N-EtFOSA	D-N-EtFOSA	NA
4:2 FTSA	NA	M-6:2-FTSA	M-6:2-FTSA	NA
6:2 FTSA	MPFOS	M-6:2-FTSA	M-6:2-FTSA	MPFOS
8:2 FTSA	NA	M-6:2-FTSA	M-6:2-FTSA	NA
6:2 FTUCA	NA	NA	NA	MPFOA
8:2 FTUCA	NA	NA	NA	MPFOA
5:3 FTCA	NA	NA	NA	MPFOA
7:3 FTCA	NA	NA	NA	MPFOA
6:2 diPAP	NA	M-6:2-diPAP	M-6:2-diPAP	NA
8:2 diPAP	NA	M-6:2-diPAP	M-6:2-diPAP	NA
diSAmpAP	NA	M-6:2-diPAP	M-6:2-diPAP	NA
PFOAB	NA	NA	NA	MPFOS
PFOSB	NA	NA	NA	MPFOS
PFOANO	NA	NA	NA	MPFOS
PFOSNO	NA	NA	NA	MPFOS
PFOAAmS	NA	NA	NA	MPFOS
PFOSAmS	NA	NA	NA	MPFOS
PFOSAm	NA	NA	NA	MPFOS

Le coefficient $K_{x/IS}$ précédemment défini est donc déterminé à un niveau donné de concentration en analytes et en étalons internes. Dans le cadre de ces travaux de thèse, nous avons préféré utiliser des courbes d'étalonnage (entre 5 et 10 points) avec des concentrations en analyte couvrant deux à trois ordres de grandeur et une concentration en étalon interne intermédiaire. Le coefficient $K_{x/IS}$ a donc été déterminé par régression sur l'ensemble du domaine couvert par la droite d'étalonnage (pente définie par $A_x / A_{IS} = f(m_x / m_{IS})$). Sauf mention contraire, une régression linéaire est utilisée, et les solutions étalon sont préparées dans le solvant (méthanol), tant que les effets

matriciels sont modérés (Cf. § II.6). Pour la méthode d'analyse des PFAS par LDTD/APCI-Orbitrap-MS, il a ainsi été jugé préférable de déterminer la pente $K_{x/IS}$ par la méthode des ajouts dosés pour des matrices aqueuses complexes (ex : effluents de station d'épuration). Etant donné l'amplitude couverte par les concentrations en analyte, une régression pondérée en $1/x$ a été utilisée pour compenser l'hétéroscédasticité des données (augmentation de la variance avec x).

Le calcul de la quantité d'analyte dans l'échantillon (m'_x) est alors déterminée par l'expression suivante :

$$m'_x = (A'_x / A'_{IS}) * m'_{IS} * (1 / K_{x/IS})$$

où A'_x et A'_{IS} sont les aires des pics de l'analyte et de l'étalon interne sur le chromatogramme de l'échantillon, respectivement, m'_{IS} est la quantité d'étalon interne ajoutée à l'échantillon, et $K_{x/IS}$ désigne la pente de la droite d'étalonnage.

Deux points essentiels sont à prendre en compte lors de l'ajout des étalons internes à l'échantillon : i) l'étape de la procédure analytique au cours de laquelle les étalons internes sont ajoutés, et ii) la quantité d'étalons internes ajoutée.

Lorsque les courbes d'étalonnage ne subissent pas le protocole de préparation (simple dilution des analytes et étalons internes par ajout de solvant ou d'un extrait de matrice juste avant l'injection), il est capital d'ajouter les étalons internes aux échantillons en début de procédure analytique afin de s'affranchir des pertes d'analytes intervenant au cours de la préparation. Si par contre les étalons internes sont ajoutés en fin de protocole (juste avant l'étape d'analyse instrumentale), les quantités d'analyte ainsi déterminées devraient en toute rigueur être divisées par un coefficient k reflétant le rendement d'extraction (ex : rendement = 80 % => $k = 0,8$) afin de remonter à la quantité initialement présente dans l'échantillon. Par conséquent, nous avons systématiquement ajouté les étalons internes en début de procédure de préparation (quantités exactes déterminées par gravimétrie) et l'étalonnage a été réalisé sur des courbes d'étalonnage non-extraites.

Signalons que dans le cas particulier de la méthode LDTD, afin d'estimer d'éventuelles différences d'effet matriciel inter-échantillons (en examinant l'aire des étalons internes), les extraits d'eau de STEP ont été évaporés à sec et repris par un volume exact (250 μ L) de solution d'étalons internes. Afin de contourner le problème des pertes liées au rendement, nous avons opéré de la manière suivante pour les courbes d'étalonnage LDTD : 200 mL de chaque filtrat d'eau de STEP ($n = 7$ échantillons) ont été regroupés et homogénéisés, puis 5 x 250 mL de ce mélange ont été répartis dans cinq bouteilles (représentant les cinq niveaux de la courbe d'étalonnage). Après dopage avec les analytes uniquement, les cinq échantillons subissent le protocole de préparation, incluant donc la reprise par 250 μ L de solution d'étalons internes. Puisque les étalons internes sont ajoutés en fin de protocole mais que les courbes d'étalonnage sont extraites, les pertes liées au rendement sont corrigées de façon « globale ». Bien que cette procédure présente l'avantage d'intégrer d'éventuels

effets de matrice, elle ne prend donc pas en compte les différences de rendement inter-échantillons qui pourraient survenir.

Enfin, concernant la quantité d'étalons internes à ajouter aux échantillons, il faut garder à l'esprit que le rapport des aires analyte / étalon interne observé dans les échantillons devrait idéalement rester dans la gamme couverte par la droite d'étalonnage afin de garantir la fiabilité de la quantification. En théorie, la quantité d'étalons internes ajoutée à l'échantillon ne devrait pas être éloignée de plus d'un à deux ordres de grandeur de celle de l'analyte (Lee et al., 2015). Pour ces raisons, nous avons opté pour l'ajout d'une quantité intermédiaire d'étalons internes aux échantillons, entre 2–20 ng mL⁻¹ dans l'extrait final, en fonction du type de matrice et de la méthode. Lors de l'analyse par SPE en ligne, une fraction importante (~ 50 %) de l'extrait final est injectée, ce qui a permis de réduire la consommation d'étalons internes (< 0,05 ng mL⁻¹ dans l'extrait final).

II.6. VALIDATION DES METHODES ANALYTIQUES

Les procédures de préparation des échantillons et de quantification précédemment décrites (Cf. § II.4 et II.5) ont été validées au moyen d'échantillons fortifiés, d'échantillons de référence interne au laboratoire, ou de matrices certifiées. La validation est aussi l'occasion de définir le cadre et les limites d'utilisation des méthodes analytiques proposées, notamment par la détermination des limites de détection, de quantification, et du domaine de linéarité. Le choix de courbes d'étalonnage dans le solvant plutôt que par ajouts dosés à un extrait de matrice a été envisagé dans le cas où les effets matriciels restaient modérés. L'objet de cette section est de présenter les méthodologies mises en œuvre pour la validation des méthodes, et de donner quelques exemples illustratifs. Les performances des méthodes analytiques sont plus amplement développées au chapitre III et les niveaux de PFAS observés dans les blancs de protocole sont précisés dans chaque article des chapitres III à VI.

II.6.a. Linéarité

La linéarité a été évaluée en analysant des courbes d'étalonnage entre 5 et 10 niveaux, les concentrations en analytes couvrant typiquement entre 2 et 3 ordres de grandeur et la concentration en étalons internes étant fixée. Les courbes d'étalonnage ont été réalisées dans le solvant et/ou dans la matrice (méthode des ajouts dosés). Une régression linéaire (pondération en 1/x) a été généralement appliquée sauf dans le cas de la SPE en ligne pour les fluorotélomères sulfonates (régression quadratique). Les paramètres suivants ont été évalués : coefficient de détermination (R^2), domaine de linéarité (ou domaine dynamique, pour les régressions quadratiques), et déviation entre la réponse relative observée et celle recalculée par le modèle de régression (résidus). Des $R^2 > 0,995$ sont généralement observés, le domaine de linéarité couvrant au moins deux ordres de grandeur de concentration et les résidus restant compris entre ± 15 % de la valeur cible.

II.6.b. Limites de détection

Pour les analyses faisant intervenir un spectromètre de masse triple quadripôle, les limites de détection (LOD) ont été déterminées selon la procédure suivante :

- i) si l'analyte est détecté dans les blancs de protocole, la limite de détection est déterminée à partir de l'écart-type sur les blancs multiplié par le facteur de Student $t_{n-1; 95\%}$ correspondant à un risque de 5 % et n-1 degrés de liberté (n désigne le nombre de blancs de protocole) ;
- ii) si l'analyte n'est pas détecté dans les blancs de protocole mais est détecté dans les échantillons, la limite de détection est déterminée à partir du rapport signal sur bruit de l'analyte dans un échantillon réel (S/N = 3) ;
- iii) si l'analyte n'est ni détecté dans les blancs de protocole, ni dans les échantillons, la limite de détection est déterminée à partir du rapport signal sur bruit de l'analyte dans un échantillon dopé avec les analytes (S/N = 3).

Pour les analyses faisant intervenir un spectromètre de masse à haute résolution, les limites de détection (LOD) ont été déterminées selon la procédure suivante :

- i) si l'analyte est détecté dans les blancs de protocole, la limite de détection est déterminée à partir de l'écart-type sur les blancs multiplié par le facteur de Student $t_{n-1; 95\%}$ (n désigne le nombre de blancs de protocole) ;
- ii) si l'analyte n'est pas détecté dans les blancs de protocole, la limite de détection est déterminée à partir de l'erreur sur l'ordonnée à l'origine de la droite d'étalonnage, la pente de la régression, et la quantité d'étalons internes ajoutée.

Les limites de quantification (LOQ) ont été fixées selon la plus sévère des deux options suivantes : soit à 3 x LOD, soit au premier niveau marquant le début du domaine de linéarité.

II.6.c. Effet matrice

L'effet matrice (exprimé en pourcentage) a été déterminé en comparant les réponses relatives (aire analyte / aire étalon interne) dans le solvant (S) à celles dans la matrice (M), les valeurs positives indiquant un effet d'exaltation de signal ($M > S$) et les valeurs négatives un effet de suppression de signal ($M < S$) : Effet Matrice (%) = $100 \times (1 - S/M)$

Dans le cas des chapitres **III.1** et **III.3**, l'effet matrice a été déterminé sur deux niveaux de dopages. Dans le cas des chapitres **III.2**, et **VI.1**, l'effet matrice indiqué correspond à la comparaison des pentes des courbes d'étalonnage dans le solvant (S) à celle dans la matrice (M).

Lorsque les courbes d'étalonnage sont non-extraites, il faut faire attention à ce que l'effet de dilution lié à l'ajout des composés natifs et des étalons internes reste limité. Dans l'idéal, il faudrait aussi faire en sorte que cet effet de dilution soit similaire entre les différents points de gamme.

Nous avons donc adopté la procédure suivante : 8 dilutions en cascade sont réalisées à partir d'un mélange de solution de composés natifs S_9 ($S_9 \rightarrow S_1$). Un volume fixé de chaque solution S_i (ex. 15 μL) (quantité exacte déterminée par gravimétrie) est ajouté à chaque point de gamme L_i (L_1 à L_9). Un volume fixé de la solution d'étalons internes IS (15 μL) (quantité exacte déterminée par gravimétrie) est ajouté à chaque point de gamme L_i (L_1 à L_9). Toujours par gravimétrie, pour chaque point de gamme L_i (L_1 à L_9), on réalise la dilution par 270 μL de solvant (L_i solvant) ou par 270 μL d'extrait de matrice (L_i ajouts dosés). Un point de gamme supplémentaire L_0 (non-dopé avec les natifs) est préparé en ajoutant 285 μL de solvant à 15 μL de solution IS (L_0 solvant) ou en ajoutant 270 μL d'extrait de matrice à 15 μL de solution IS et 15 μL de solvant (L_0 ajouts dosés). En procédant de la sorte, l'effet de dilution de la matrice du fait de l'ajout des composés reste modéré (10 %) et est de surcroît identique pour l'ensemble des points de gamme.

En général, les effets matriciels restent compris entre -20 et +20 % (Cf. **Tableau 2.5** en page suivante). L'observation d'effets matriciels modérés justifie le choix de courbes d'étalonnage dans le solvant (non-extraites) pour la quantification des analytes dans les échantillons réels. En présence de matrice de plasma de poulet (méthode SPE en ligne couplée à la LC/ESI-MS/MS), 3/26 composés présentaient des effets matriciels relativement importants : le PFDS (+118 %), le 8:2 diPAP (-158 %), et le diSAmPAP (-60 %). Ces composés n'ayant cependant jamais été détectés dans les échantillons réels, il a été jugé préférable de conserver la courbe d'étalonnage dans le solvant plutôt que de procéder par ajouts dosés (méthode lourde à mettre en œuvre dans le cadre d'analyses de routine). En raison d'effets matriciels importants lors de l'application de la méthode LDTD/APCI-Orbitrap-MS aux échantillons d'effluent d'eau usée, nous avons utilisé deux types de courbes d'étalonnage (extraites) pour quantifier les échantillons : une courbe dans l'eau HPLC pour les blancs, les échantillons d'eau du robinet ainsi que l'eau de surface, et une courbe dans un mélange d'effluent de STEP pour les échantillons d'eau de STEP.

II.6.c. Rendements

Le rendement individuel par étapes n'a en général pas été caractérisé, sauf certaines étapes en amont du démarrage de la procédure de préparation, telles que les étapes de filtration sur GF/F (Cf. chapitre **III.3**) ou de stockage de l'échantillon (Cf. § **II.3**). Les rendements des méthodes analytiques désignent donc un rendement « global » de préparation, à partir du démarrage de l'extraction (extraction + purification + concentration).

Pour des matrices ne contenant pas de niveaux initiaux de PFAS détectables et pour lesquelles un effet matriciel négligeable était attendu (ex : eau Vittel, sable de Fontainebleau), le rendement a été déterminé par la **Méthode 1** qui consiste à ajouter une quantité connue de natifs avant le démarrage de l'extraction (en général, 1 ng L^{-1} pour l'eau et 1 ng g^{-1} en poids sec pour les matrices solides), les étalons internes étant ajoutés aux extraits en fin de protocole. Le rendement est alors déterminé en comparant la masse de natifs quantifiée et celle théoriquement attendue.

Tableau 2.5. Effet matrice (%) des PFAS évalué pour quatre types de matrices et cinq méthodes d'analyse. L'effet matrice a été déterminé soit sur un niveau de dopage, soit sur l'ensemble du domaine de linéarité (comparaison des pentes dans le solvant et dans la matrice). Seuls les analytes communs aux différentes méthodes sont reportés dans ce tableau (résultats complets pour chaque méthode détaillés dans les chapitres indiqués).

	Muscle de poisson (truite, îles Kerguelen)	Plasma de poulet (Sigma-Aldrich)	Eau de STEP (ville de Repentigny, Québec)	Sédiment (fleuve S ^t Laurent, Québec)	Muscle de poisson (truite, NIST SRM 1947)
	Extraction micro-ondes (EtOH)	Précipitation des protéines (ACN)	Strata X-AW	Extraction ultrasons (MeOH/NaOH)	Extraction ultrasons (MeOH/NH ₄ OH)
	Strata X-AW / ENVI-Carb	Centrifugation et filtration	Charbon de noix de coco	Purification ENVI-Carb	Strata X-AW / ENVI-Carb
	LC/ESI-MS/MS	SPE en ligne LC/ESI-MS/MS	LDTD/APCI-Orbitrap-MS	LC/ESI-Orbitrap-MS	LC/ESI-Orbitrap-MS
Calcul	Rapport des aires	comparaison des pentes*	Rapport des aires	comparaison des pentes	comparaison des pentes
<i>Chapitre</i>	III.1	III.2	III.3	VI.1	VI.2
PFHpA	4	-14	-32	0	4
PFOA	8	-2	-22	-22	5
PFNA	16	7	-22	0	3
PFDA	-7	-17	-24	-2	-1
PFUnDA	0	-20	-10	-3	3
PFDoDA	8	-2	-15	-2	-1
PFBS	-13	2	-48	-3	-5
PFHxS	3	0	-16	-1	2
L-PFOS	0	3	-2	-1	2
PFDS	12	118	-31	6	0
FOSA	19	-7	-40	7	-9

*Comparaison des pentes : Effet Matrice (%) = 100 * (1 – S/M) où S est la pente de la courbe d'étalonnage dans le solvant et M celle de la courbe d'étalonnage dans la matrice (ajouts dosés).

Dans le cas de la matrice « truite commune (*S. trutta*) des îles Kerguelen », le rendement a été calculé après détermination préalable des teneurs initiales. Les résultats des tests de dopage de l'eau Vittel, du sable de Fontainebleau et de la truite des îles Kerguelen sont globalement satisfaisants (rendements entre 70–110 % pour la majorité des analytes) (**Figure 2.23**). Des rendements inférieurs à 50 % sont fréquemment observés pour les dérivés N-alkyle du perfluorooctane sulfonamide (MeFOSA et EtFOSA) dans l'eau de Vittel, probablement dû à des pertes par adsorption lors de l'étape de chargement sur Strata X-AW, ou lors de l'étape d'évaporation.

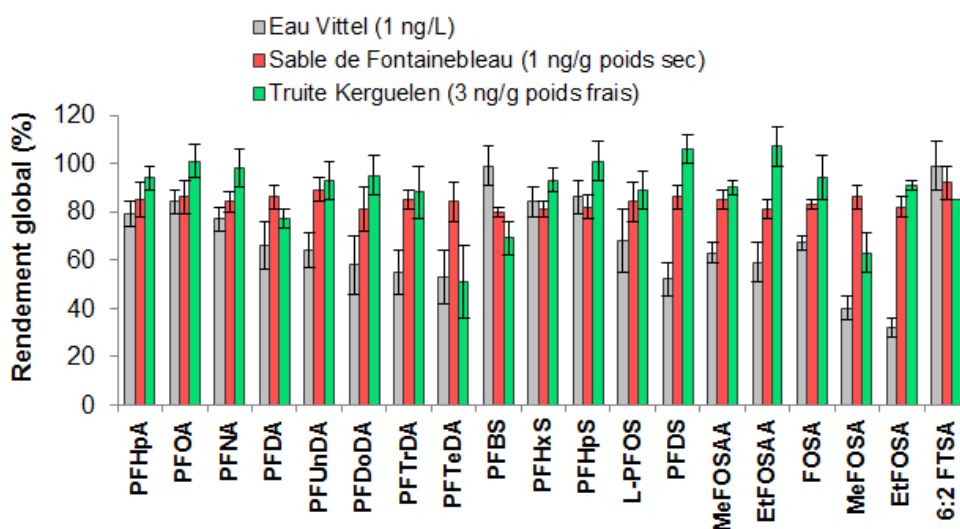


Figure 2.23. Rendements obtenus par la **Méthode 1** pour l'eau Vittel, le sable de Fontainebleau et la truite des îles Kerguelen dopés à 1 ng L⁻¹, 1 ng g⁻¹ de poids sec, et 3 ng g⁻¹ de poids frais, respectivement, et analysés par LC-ESI-MS/MS (Agilent 6490 QqQ). Seuls les analytes communs aux 3 matrices apparaissent sur le graphe. Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type (n = 3–4).

Lorsque les matrices dopées contiennent des niveaux détectables de PFAS initiaux et afin de s'affranchir de potentiels effets matriciels, le rendement a été déterminé par la **Méthode 2** selon l'expression suivante :

$$R = 100 \times (AV - ND) / (AP - ND)$$

où AV, ND et AP désignent les réponses relatives (aire de l'analyte divisée par celle de l'étalon interne correspondant, corrigée par le rapport des masses de l'analyte sur l'étalon interne) de matrices :

- dopées avec les composés natifs avant le démarrage de l'extraction (AV)
- dopées avec les composés natifs en fin de préparation (après extraction, purification et concentration) (AP)
- non dopées (ND)

Dans les trois cas, les étalons internes sont ajoutés en fin de préparation de l'échantillon.

La **Figure 2.24** offre une bonne illustration des différences de rendements pouvant être observées entre la **Méthode 1** et la **Méthode 2** dans le cas où les effets matriciels ne sont pas négligeables (échantillons de plasma de poulet dopés) :

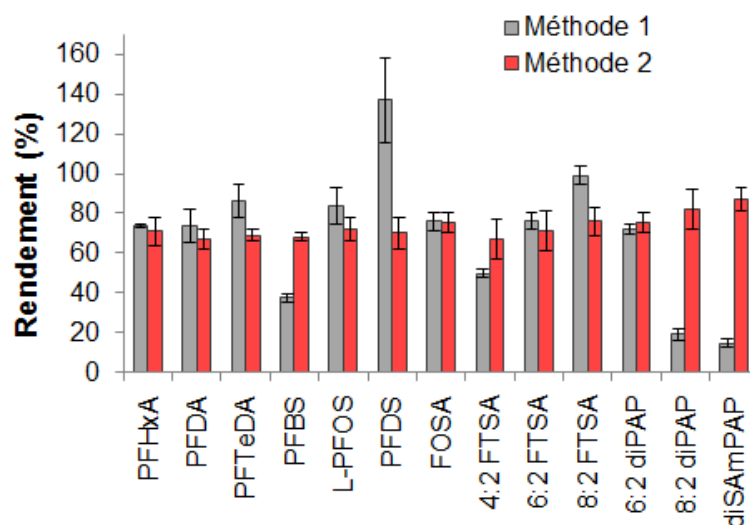


Figure 2.24. Rendements obtenus par la **Méthode 1** et la **Méthode 2** (§ II.6.c) pour des échantillons de plasma de poulet dopé à 5 ng g⁻¹ de plasma. Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type (n = 3).

Pour les composés dont l'étalon interne est analogue au composé natif (PFHxA, PFDA, PFTeDA, L-PFOS, FOSA, 6:2 FTSA, 6:2 diPAP), les rendements obtenus par chacun des deux modes de calculs sont en bon accord (**Figure 2.24**). A noter les rendements aberrants pour la première méthode de calcul (**Méthode 1**) entre perfluoroalkyle sulfonates (37 ± 2 % et 137 ± 21 % pour le PFBS et le PFDS, respectivement) ou entre fluorotélomères phosphates disubstitués (72 ± 3 % et 19 ± 10 % pour le 6:2 diPAP et le 8:2 diPAP, respectivement), probablement dû à un effet matriciel non compensé par les étalons internes.

II.6.d. Exactitude et précision

L'exactitude de la procédure analytique (test de quantification) a été évaluée au moyen d'échantillons supplémentés en analytes et en étalons internes (quantités exactes déterminées par gravimétrie) juste avant l'étape d'extraction. Pour chaque analyte, la quantité quantifiée (Qn) est comparée à la quantité théorique ajoutée (Th) afin de déterminer l'exactitude, une valeur de 100 % traduisant une adéquation parfaite entre les deux :

$$\text{Exactitude (\%)} = 100 * Qn / Th$$

Lorsque la matrice contient naturellement des analytes (in), le terme au dénominateur est corrigé par Th + in. L'exactitude, évaluée à deux niveaux de concentration différents, est restée généralement comprise entre 80 et 120 % pour la majorité des analytes.

La précision des méthodes a été déterminée sur des tests de quantification répliqués ($n \geq 3$) et analysés le même jour (précision intra-journalière) en calculant l'écart-type relatif (en %) sur l'exactitude.

Le processus peut-être répété sur plusieurs jours différents ce qui donne accès à la précision inter-journalière.

Dans la majorité des cas, la reproductibilité est satisfaisante, les variations intra- et inter-journalières restant inférieures à 25 %. Les composés natifs et les étalons internes étant ajoutés en début de protocole, cette variabilité inclut donc celle liée à l'ensemble des étapes de préparation et celle de l'analyse instrumentale proprement dite.

II.6.e. Justesse

La justesse des méthodes analytiques a été vérifiée par l'analyse de matrices de référence (NIST SRM 1947) ou de matrices certifiées (NIST SRM 1957) pour les PFAS. La matrice de truite du Lac Michigan (NIST SRM 1947) a été lyophilisée après réception (humidité ~ 71–73 %) et celle de sérum humain (NIST SRM 1957) reconstituée dans 10 mL d'eau HPLC. Les étalons internes sont ajoutés à une aliquote de la matrice (250 mg ou 25 mg pour les matrices de truite et de sérum, respectivement) juste au début de la procédure de préparation. La justesse est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Justesse} = 100 * Q_n / \text{Ref}$$

Où Q_n désigne la concentration ou teneur en PFAS déterminée expérimentalement au laboratoire et Ref la concentration indiquée dans une référence extérieure au laboratoire (exercice d'inter-comparaison, concentration donnée par un organisme accrédité), une justesse de 100 % traduisant une parfaite adéquation entre les concentrations quantifiées et la référence. Ce test s'apparente donc au test de quantification décrit dans le paragraphe précédent, à la différence près que la concentration théorique est celle donnée par une référence extérieure au laboratoire (Reiner et al., 2012 ou certificat du NIST pour les matrices de truite et de sérum, respectivement) et que les matrices ne sont pas supplémentées en analytes (PFAS initialement présents dans la matrice).

La justesse moyenne obtenue pour la matrice de truite (NIST SRM 1947) est généralement comprise entre 70 et 110 % (**Figure 2.25**). La variabilité est plus importante pour les perfluoroalkyle carboxylates, présents à des concentrations inférieures à $0,3 \text{ ng g}^{-1}$ de poids frais, que pour le PFOS (~ $5,5 \text{ ng g}^{-1}$ de poids frais). A noter l'excellente adéquation des justesses obtenues entre le LPTC et l'UdeM, malgré les différences de techniques d'extraction (micro-ondes Vs ultrasons) ou d'analyse instrumentale (QqQ Vs Orbitrap).

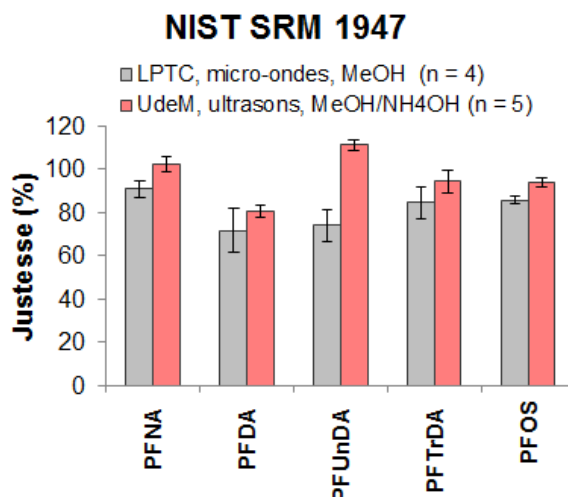


Figure 2.25. Illustration des justesses obtenues lors de l'analyse de la matrice de référence NIST SRM 1947 par deux méthodes indépendantes : i) LPTC (extraction micro-ondes avec le MeOH, purification Strata X-AW/graphite, analyse LC/ESI-QqQ-MS) ; et ii) UdeM (extraction ultrasons avec MeOH + 0,1 % NH₄OH, purification Strata X-AW/graphite, analyse LC/ESI-Orbitrap-MS).

Les justesses obtenues lors de l'analyse de la matrice certifiée de sérum humain (NIST SRM 1957) sont comprises entre 50 et 120 % pour l'ensemble des analytes. A l'exception du PFHpA, aucune différence notable n'a été remarquée entre la matrice analysée fraîchement après reconstitution et celle analysée après six mois de conservation à -20°C (Cf. § II.3.c).

II.7. CONTROLE QUALITE ET TRAITEMENT DES DONNEES

Les progrès techniques ont permis une amélioration considérable des limites de détection instrumentales. Dans le domaine de l'ultra-trace, la maîtrise de l'environnement de travail à chaque étape de la procédure analytique devient essentielle afin d'abaisser les limites de détection qui restent souvent limitées par le « mur de la contamination ambiante ». A cet égard, le travail au LPTC est organisé par niveau de contamination, à commencer par les salles de manipulation. Selon le même principe, l'ensemble du matériel est séparé par application environnementale selon trois niveaux : i) eaux embouteillées ; ii) eaux de surface ou souterraines et matrices solides peu contaminées (sédiments naturels, biote) ; et iii) effluents de stations d'épuration et autres matrices contaminées (boues résiduelles, lixiviats). La verrerie, gravée de façon nominative, est nettoyée au lave-vaisselle automatique après chaque utilisation puis calcinée pendant 6 h à 450 °C dans un pyrolyseur dédié.

Si la démarche d'assurance qualité peut paraître au premier abord contraignante et onéreuse à mettre en œuvre, elle s'avère dans la pratique essentielle afin d'assurer la traçabilité depuis la réception de l'échantillon jusqu'à l'édition des résultats. Pour cela, nous avons opéré un contrôle systématique des solutions d'étalons certifiés (suivi gravimétrique), procédé par gravimétrie pour l'ajout des étalons internes aux échantillons, et réalisé au moins un blanc de protocole et un test de

dopage par série d'extraction. Dans le cadre de la campagne prospective de l'INERIS, des blancs de filtration ont également été analysés en parallèle des blancs de protocole. Lorsque cela était possible, nous avons également analysé des matrices de référence afin d'évaluer la justesse de la procédure analytique. Enfin, des actions de métrologie sont régulièrement réalisées sur les différents équipements (calibration des balances, contrôle régulier des pipettes).

Avant chaque séquence d'analyse, le spectromètre de masse est calibré (vérification de l'écart entre les masses théoriques et mesurées de composés standards du calibrant, et vérification des aires absolues permettant de s'assurer de l'état général de sensibilité du système). Après montage et équilibrage en pression de la colonne analytique, un blanc d'injection et un standard (premier niveau de la gamme d'étalonnage) sont injectés afin de contrôler l'état de contamination et de sensibilité du système. Au LPTC, une colonne est montée en sortie de voie A juste avant la chambre de mélange afin de piéger les PFAS (Cf. § II.5.b) ; de ce fait, nous n'observons généralement pas de PFAS détectables dans les blancs d'injection. Pour le système LC/ESI-Orbitrap-MS utilisé à l'UdeM, il n'a pas été possible de transposer ce montage ; ceci peut en partie expliquer la détection quasi-systématique du PFOA dans les blancs d'injection (de l'ordre de quelques centaines de picogrammes).

L'injection d'une solution de contrôle à 1 pg mL^{-1} permet notamment de s'assurer de l'état de sensibilité du système (suivi des aires absolues et des limites de quantification instrumentales) mais également des temps de rétention et de la forme des pics chromatographiques, la pression en tête de colonne pouvant évoluer au cours des séquences successives. Le suivi des limites de quantification instrumentales pour le PFOS (extrapolées pour $S/N = 3$ à partir d'une quantité injectée de 5 pg) est illustré en **Figure 2.26**.

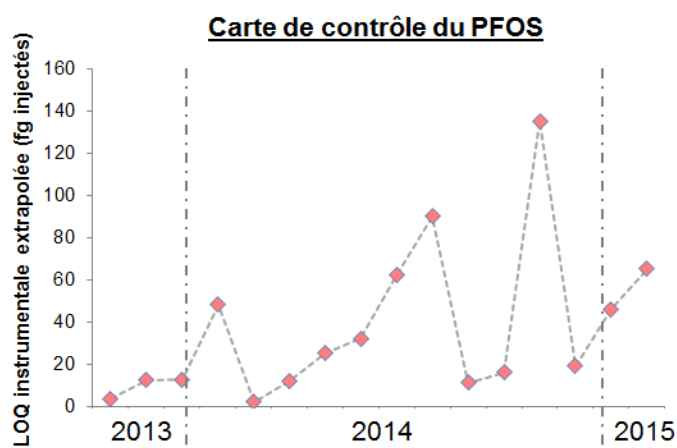


Figure 2.26. Suivi des limites de quantification instrumentales extrapolées du PFOS pour une quantité injectée d'environ 5 pg sur le système LC/ESI-MS/MS (Agilent 6490 QqQ), de juillet 2013 à mars 2015.

Outre le contrôle systématique de la sensibilité et de la chromatographie, le suivi du coefficient de réponse ($K_{x/IS}$) est réalisé en début et en fin de chaque séquence d'injection. L'observation du coefficient $K_{x/IS}$ entre séquences successives permet de contrôler qu'il n'y a pas de dérive sur les solutions d'étalons au cours du temps, et le suivi entre le début et la fin de chaque séquence, qu'il n'y a pas d'augmentation de l'effet matriciel (exaltation ou suppression de signal) au fur et à mesure des injections, les séquences pouvant parfois comporter plusieurs centaines d'échantillons.

Par ailleurs, il a été observé au cours d'un test préliminaire de conservation d'une gamme de solutions diluées de PFAS dans le MeOH (contenant natifs et étalons internes) que le coefficient de réponse $K_{x/IS}$ pouvait être affecté par la durée du stockage à -20 °C. Les analytes les plus affectés au bout de 6 mois de stockage sont les acides perfluoroalkylés carboxyliques à chaînes courtes PFBA ($n_C = 3$) et PFPeA ($n_C = 4$), probablement dû à des pertes par réaction d'estérification avec le méthanol non compensées par leur étalon interne $^{13}C_2$ -PFHxA ($n_C = 5$). Une durée maximale de stockage de 3 mois pour les solutions de PFAS diluées dans le méthanol a été adoptée. Les solutions stock (mères) fournies par *Wellington Laboratories* possèdent quant à elles un agent stabilisant qui garantit les concentrations pendant une durée plus importante.

L'analyse de matrices de référence ou de matrices certifiées permet elle aussi de s'assurer de la fiabilité des résultats au cours du temps. La **Figure 2.27** présente les cartes de contrôle de l'ensemble des résultats d'analyse du PFOS pour la matrice de truite NIST SRM 1947 ($n = 20$) (**2.27.a**) et la matrice de sérum NIST SRM 1957 ($n = 15$) (**2.27.b**). Chaque réplicat correspond à une nouvelle préparation et les variations observées entre réplicats correspondent donc à la variabilité inhérente à la préparation, à l'analyse instrumentale, ou à la préparation des solution-étalons servant à la quantification.

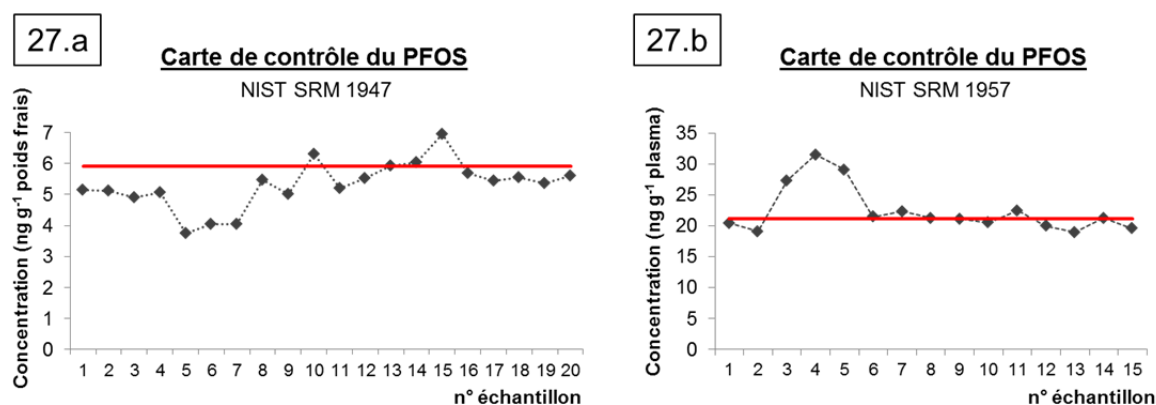


Figure 2.27. Cartes de contrôle du PFOS pour la matrice de référence NIST SRM 1947 (muscle de truite du Lac Michigan, $n = 20$) (**2.27.a**) analysée par LC/ESI-MS/MS (Agilent 6460 ou 6490) ou par LC/ESI-MS (Orbitrap), et pour la matrice certifiée NIST SRM 1957 (sérum humain, $n = 15$) (**2.27.b**) analysée par SPE en ligne couplée à la LC/ESI-MS/MS (Agilent 6490). Les lignes continues rouges indiquent la valeur de référence pour la SRM 1947 (5,89 ng g⁻¹ poids frais, Reiner et al. 2012) et la valeur certifiée pour la SRM 1957 (21,0 ng g⁻¹ plasma, NIST).

De plus amples détails concernant le suivi des rendements, des tests de quantification, et des niveaux observés dans les blancs de protocole sont fournis en annexes des chapitres applicatifs. A titre illustratif, nous reproduisons dans le **Tableau 2.6** ci-après les quantités d'analytes (en ng) observées dans les blancs de protocole correspondants aux séries d'analyse de la campagne prospective de 2012 (n = 51 blancs pour la phase dissoute et n = 11 blancs pour le sédiment). En général, les quantités maximales retrouvées dans les blancs de protocole ne dépassent pas quelques centaines de picogrammes (**Tableau 2.6**).

Tableau 2.6. Niveaux de PFAS observés dans les blancs de protocole (ng, moyenne \pm écart-type) lors de la campagne prospective de 2012.

	Matrice eau (ng)	Matrice sédiment (ng)
	Eau minérale Vittel (500 mL)	Sable de Fontainebleau (1 g)
n	51	11
PFBA	0.04 \pm 0.05	0.09 \pm 0.10
PFPeA	0.15 \pm 0.08	0.21 \pm 0.10
PFHxA	0.01 \pm 0.03	0.25 \pm 0.51
PFHpA	0.003 \pm 0.01	0.02 \pm 0.06
PFOA	0.01 \pm 0.02	0.04 \pm 0.06
PFNA	nd*	0.01 \pm 0.02
PFDA	0.004 \pm 0.02	0.03 \pm 0.03
PFUnA	0.002 \pm 0.02	0.003 \pm 0.01
PFDoA	nd	nd
PFTTrDA	nd	nd
PFTeDA	nd	nd
PFBS	0.001 \pm 0.005	0.001 \pm 0.005
PFHxS	nd	nd
PFHpS	nd	nd
Br-PFOS	0.001 \pm 0.004	nd
L-PFOS	0.005 \pm 0.02	0.002 \pm 0.004
PFDS	0.002 \pm 0.01	nd
MeFOSAA	NA**	nd
EtFOSAA	NA	nd
FOSA	0.01 \pm 0.02	0.002 \pm 0.001
MeFOSA	0.005 \pm 0.03	0.001 \pm 0.004
EtFOSA	0.002 \pm 0.02	nd
6:2 FTSA	nd	nd

*nd: non détecté. **NA: non disponible.

Lorsque des niveaux détectables de PFAS sont observés dans les blancs de protocole, la quantité déterminée dans les blancs a été soustraite de la quantité déterminée dans l'échantillon (opération réalisée avant de convertir les quantités en concentrations par le biais de la prise d'essai).

Malgré la sensibilité des méthodes analytiques appliquées, il est rare que l'ensemble des composés recherchés soient systématiquement détectés dans les échantillons environnementaux. Afin de pouvoir calculer des statistiques descriptives (moyenne, médiane, écart-type) par composé, une pratique courante en chimie environnementale consiste à remplacer les données censurées (données < LOD) par une fraction de la limite de détection, habituellement $0,5 \times \text{LOD}$ ou moins fréquemment $\text{DF} \times \text{LOD}$ (DF : fréquence de détection). Cependant, l'utilisation de ces techniques de substitution peut dans certains cas conduire à des interprétations erronées (Helsel, 2012). Dans le cadre des chapitres applicatifs **IV.1** et **V.3**, des méthodes alternatives de calcul utilisant des fonctions du package NADA (Nondetects And Data Analysis) et LMEC (Linear Mixed Effect models with Censored responses) sous R sont brièvement présentées. Ces méthodes se basent généralement sur la distribution des valeurs observées avant d'imputer aléatoirement une valeur pour celles < LOD (la valeur imputée n'est pas accessible à l'utilisateur) (Helsel, 2012). Une brève discussion a également été menée dans les chapitres applicatifs **IV.1** et **V.3** ainsi que dans la synthèse générale (**Chapitre VII**) afin de comparer les résultats obtenus avec les méthodes de substitution traditionnelles et ceux obtenus avec des méthodes alternatives (NADA, LMEC).

Si les nouveaux outils de traitement de données censurées fournissent sans doute des statistiques descriptives ou des corrélations plus robustes, il convient néanmoins de rester prudent quant aux interprétations ; en outre, l'observation de corrélations entre PFAS ou entre telle molécule et tel paramètre d'accompagnement n'implique pas nécessairement l'existence de relations causales.

CHAPITRE III

DEVELOPPEMENT ET VALIDATION DE METHODES POUR L'ANALYSE CIBLEE DES PFAS

DEVELOPPEMENT ET VALIDATION DE METHODES POUR L'ANALYSE CIBLEE DES PFAS

Ce chapitre présente trois méthodes analytiques développées dans le cadre de ces travaux de thèse pour l'analyse ciblée des PFAS. La quatrième méthode a été incluse au chapitre **VI** puisqu'il était question de la recherche de PFAS d'intérêt émergent (chapitre **VI.1**). A noter que des méthodes pour l'analyse de PFAS dans les matrices eau et sédiment (adaptées de Labadie et Chevreuil, 2011a,b) sont décrites en détail dans le chapitre **II** et ont été appliquées à l'occasion de suivis environnementaux (ex : chapitres **IV** et **V**).

La première partie de ces développements a consisté à optimiser les procédures analytiques de la préparation de l'échantillon jusqu'à la phase d'analyse instrumentale. Dans cette optique, il convenait dans un premier temps d'identifier les facteurs X_i (ainsi que le domaine expérimental à explorer pour ces derniers) susceptibles d'influencer les réponses Y_i (ex : rendement, aire absolue, effet matriciel). Lorsque cela était jugé opportun, nous avons fait appel à des techniques de chimométrie (ex : plan d'expérience fractionnaire ou complet), permettant de faire varier plusieurs facteurs simultanément et ainsi de prendre en compte d'éventuelles interactions lors de l'optimisation. Par la suite, les méthodes ont été validées en termes de blancs analytiques, de linéarité, d'effet matriciel, de limites de détection et de quantification, de rendement global de préparation, d'exactitude et de précision. Dans le cas où des matrices de référence étaient disponibles (ex : NIST SRM 1947, NIST SRM 1957), la justesse a également été évaluée.

Le chapitre **III.1**, rédigé sous la forme d'un article succinct (« Short Communication »), décrit l'optimisation et la validation d'une méthode pour l'analyse des PFAS dans le muscle de poisson faisant intervenir l'extraction assistée par micro-ondes. Une méthode d'extraction sur phase solide en ligne (SPE en ligne) pour l'analyse ciblée des PFAS dans le plasma d'oiseaux marins est développée dans le chapitre **III.2**, l'objectif revendiqué étant de combiner une très faible prise d'essai avec des limites de détection adéquates. Enfin, le chapitre **III.3** examine la compatibilité de la désorption thermique par diode laser (LDTD) associée à la spectrométrie de masse haute résolution pour l'analyse des PFAS dans les matrices aqueuses complexes (ex : eaux usées brutes non traitées).

III.1. Analyse des PFAS dans le muscle de poisson – Optimisation d'une méthode d'extraction assistée par micro-ondes

Résumé

Dans ce chapitre, une méthode d'extraction assistée par micro-ondes pour l'analyse ultra-trace de 20 composés poly- et perfluoroalkylés (PFAS) dans le muscle de poisson est proposée. Les principaux paramètres de l'extraction micro-ondes ont été évalués et optimisés. Une quantité limitée de solvant (10 mL d'éthanol) et un bref palier à la température choisie (5 min à 100°C) sont nécessaires pour extraire en un seul cycle l'essentiel des analytes de la matrice de poisson (250 mg de poids sec). L'analyse des PFAS est alors menée par chromatographie liquide couplée à une source d'ionisation électrospray et à la spectrométrie de masse en tandem (LC/ESI-MS/MS). En raison de l'efficacité de la purification (cartouche Strata X-AW + ENVI-Carb graphite) et de la quantification par dilution isotopique, des effets matriciels modérés ont été observés (entre -13 % et +26 %) ; ceci justifie l'emploi de courbes d'étalonnage dans le solvant pour déterminer les concentrations des analytes dans les échantillons. Les rendements sont compris entre 51 et 119 % pour l'ensemble des analytes, et la variabilité intra- et inter-journalière est restée inférieure à 15 et 19 %, respectivement. La justesse de la méthode a également été évaluée sur une matrice de référence (NIST SRM 1947, truite du Lac Michigan). La méthode développée et validée est compatible avec la détermination des PFAS à des niveaux environnementaux (limites de détection = 0,01–0,12 ng g⁻¹ de poids frais), ainsi que l'atteste la détection de 13 composés sur les 20 ciblés dans trois espèces de poisson de l'estuaire de la Gironde (Σ PFAS = 0,9–4,6 ng g⁻¹ de poids frais).

Short Communication

Analysis of poly- and perfluoroalkylated compounds in fish fillets: optimization of a microwave-assisted extraction method

Gabriel Munoz^a, Caroline Simonnet-Laprade^a, Emmanuel Geneste^a, Patrick Pardon^a, Pierre Labadie^b and Hélène Budzinski^{b,*}

^a: Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC, LPTC, 351 cours de la Libération, 33400 Talence, France.

^b: CNRS, UMR 5805 EPOC, LPTC, 351 cours de la Libération, 33400 Talence, France.

*Corresponding author. Contact: helene.budzinski@u-bordeaux.fr

To be submitted as “Short Communication” in

Journal of Chromatography A

Abstract

We report on the optimization of a robust microwave-assisted extraction method for the trace-level analysis of 20 poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) in fish fillets. Microwave-assisted extraction conditions were investigated, leading to the choice of ethanol as the extraction solvent. A limited amount of solvent (10 mL) and short holding time at maximum temperature (5 min at 100°C) were sufficient to quantitatively recover analytes in a single microwave extraction cycle. Analysis was carried out by ultra-high performance liquid chromatography negative electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), quantitation being achieved against solvent-based calibration curves. Method precision was excellent, intra-day precision remaining < 15 % and inter-day < 19 %, and whole method recovery rates were adequate (range: 51–119 %). The perfluorooctane sulfonate (PFOS) concentration determined in a reference trout matrix (NIST SRM 1947) compared favorably with that of the reference (Z-score range: 0.08–2.7). The method was applied to a selection of fish from the Gironde estuary (southwestern France), Σ PFASs being reported in the range 0.9–4.6 ng g⁻¹ wet weight.

Keywords

Microwave-assisted extraction – Perfluoroalkyl substances – Fish – Ethanol – Optimization.

1. Introduction

Poly and perfluoroalkyl substances (PFASs) are strategic chemicals that have been manufactured and used for decades in numerous applications, either as processing aids or in ready-to-use products [1]. Hardly fifteen years have passed since the first paper described the widespread occurrence of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in biota [2]. Since concerns about its persistent, bioaccumulative and toxic properties were raised, PFOS has been documented in all environmental media, including humans [3]. Although multiple contamination routes have been suggested, among which drinking water, ambient air, and ingestion of house dust, human exposure to PFASs may essentially occur via diet [4]. Recently, Vestergren et al. [5] showed that fish products may represent a major contribution to the total PFAS human dietary intake, especially for the most bioaccumulative compounds such as PFOS and perfluoroalkyl carboxylates (PFCAs) bearing 8 or more perfluoroalkyl carbon atoms.

PFASs have been reported in aquatic wildlife at levels ranging anywhere from the low ng g⁻¹ (wet weight) concentration in the muscle of fish from remote altitude lakes to several µg g⁻¹ in the liver of some apex predators [6]. PFASs display variable bioaccumulation patterns, owing to differences in functional group or fluoroalkyl chain length. Due to the broad hydrophobicity range displayed by the various compounds, quantitative analysis of a wide spectrum of neutral and acidic PFASs by a single method may turn out challenging, extraction and clean-up presumably being the most critical steps [7, 8].

Significant advances have been made in the analysis of anionic and neutral PFASs in biological samples, the limits of detection (LODs) achieved being regularly improved since the first methods were published [9]. In 2001, Hansen et al. [10] developed an ion-pair extraction (IPE) with tetrabutylammonium and methyl tert-butyl ether (MTBE) as the extracting solvent, followed by liquid chromatography coupled to electrospray ionization and tandem mass-spectrometry (LC-ESI-MS/MS). Thereafter, the method was widely applied [11-13], although variable recoveries and matrix effects were reported due to the absence of a clean-up step [14]. In addition to IPE, other extraction strategies include alkaline digestion with methanol (MeOH) and a base such as potassium hydroxide (KOH) or sodium hydroxide (NaOH) [15-18], pressurized liquid extraction (PLE) [19], ultrasonic extraction together with an extraction solvent such as 1:1 MeOH:Water [20], MeOH [21] or acetonitrile (ACN) [22], and focused ultrasound solid-liquid extraction with ACN/Water [23]. Generally, a purification step with a weak-anion exchange cartridge follows [15-17, 19, 20, 23], or a graphite clean-up [22], or a combination of both [18, 21].

Compared to conventional techniques, microwave-assisted extraction (MAE) has been demonstrated to allow increased productivity as a large number of samples can be extracted simultaneously. Efficient retrieval of analytes is typically achieved in short extraction times and with sparing amount of solvent [24, 25]. In spite of these acknowledgeable benefits, MAE has not yet been applied to the analysis of PFASs. The aim of the present work was to develop a robust and sensitive MAE procedure for the analysis of a large number of PFASs in fish, including PFCAs, perfluoroalkyl sulfonates (PFSAs), perfluorooctane sulfonamide (FOSA) and N-alkylated sulfonamides, sulfonamide acetic acids, as well as one fluorotelomer sulfonate. Following optimization of extraction parameters, method performance was assessed via the analysis of fortified samples as well as a reference sample used in an international intercomparison exercise [26]. In addition, the applicability of the optimized method was investigated on selected fish samples.

2. Experimental

2.1. Chemicals and materials

Certified PFAS native compounds and isotope-labeled internal standards (ISs) were all purchased from Wellington Laboratories (BCP Instruments, Irigny, France). 20 native PFASs were targeted, including PFCAs (PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTeDA), PFSAAs (PFBS, PFHxS, PFHpS, linear PFOS (L-PFOS) and PFDS), N-alkylated sulfonamides (FOSA, MeFOSA, EtFOSA), sulfonamide acetic acids (MeFOSAA, EtFOSAA), as well as one fluorotelomer sulfonate (6:2 FTSA). Given that no standard was available for PFOS branched isomers (Br-PFOS), the concentrations were calculated from the calibration curve used for L-PFOS. $^{13}\text{C}_4$ -PFOA, $^{13}\text{C}_2$ -PFDA, $^{13}\text{C}_2$ -PFUnDA, $^{13}\text{C}_2$ -PFDoDA, $^{18}\text{O}_2$ -PFHxS, $^{13}\text{C}_4$ -PFOS, d_3 -N-MeFOSAA, $^{13}\text{C}_8$ -FOSA, d_3 -N-MeFOSA, d_5 -N-EtFOSA and $^{13}\text{C}_2$ -6:2 FTSA were used as ISs. Analyte name, acronym, structure and corresponding internal standard are provided elsewhere [27]. HPLC-grade ethanol (EtOH) was from Scharlau (ICS, Gradignan, France), while methanol (MeOH) and acetonitrile (ACN) were from J.T. Baker (Atlantic Labo, Bruges, France). Ultrapure water was obtained using a Millipore Elix 10 system fitted with an EDS Pak polisher. Nitrogen gas (99.999 %) was from Linde (St Priest, France). Strata X-AW cartridges (200 mg/6 mL) were supplied by Phenomenex (Le Pecq, France). Supelclean ENVI-Carb cartridges (0.25 g/6 mL), ammonium hydroxide (NH_4OH) (28.0-30.0 % NH_3 basis) and ammonium acetate ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) (Fluka) for HPLC (≥ 99.0 %) were obtained from Sigma-Aldrich (St Quentin Fallavier, France).

2.2. Fish samples

Fish samples (common seabass *Dicentrarchus labrax*, mullet *Liza ramada* and European eel *Anguilla anguilla*) were collected in the Gironde estuary (southwestern France) in 2012. A non-spiked spotted seabass (*Dicentrarchus punctatus*) matrix with medium PFAS content ($\sum \text{PFASs} = 3.6 \text{ ng g}^{-1}$ wet weight (ww)) was used for method optimization, while a brown trout (*Salmo trutta*) muscle sample from the Kerguelen archipelago (Southern Ocean) with naturally low PFAS content (e.g., L-PFOS $< 0.1 \text{ ng g}^{-1}$ ww) was used for fortification experiments. A reference sample (NIST SRM 1947 Lake Michigan Fish Tissue) was also included to assess method trueness.

2.3. Extraction and clean-up

Fish muscle samples were frozen, freeze-dried (72 h) and ground prior to extraction. Approximately 250 mg of freeze-dried fish muscle (equivalent to $\sim 1 \text{ g}$ wet weight (ww)) were weighed in the microwave vessels, internal standards (ISs) being added gravimetrically prior to extraction (2 ng each). Following addition of ethanol (10 mL), vessels were sealed, briefly vortexed, and placed in a START E microwave oven (Milestone SRL, Sorisole, Italy). The following program was applied: 5 min to allow

the system to reach the temperature set point (100°C), followed by a 5-min holding time at 100°C. After waiting 10 min for the vessels to cool down, extracts were filtered through glass-cotton, concentrated to 2 mL under a gentle N₂ stream (42 °C), diluted with 50 mL of Milli-Q water, and passed through Strata X-AW cartridges previously conditioned with 2 x 4 mL of MeOH/NH₄OH 0.2 % v/v and 5 mL of Milli-Q water. After sample loading, cartridges were rinsed with 5 mL of Milli-Q water, dried under vacuum (45 min), and finally centrifuged (3 min, 5000 rpm). Analytes were recovered with 2 x 4 mL of MeOH/NH₄OH 0.2 %, the extracts being passed through ENVI-Carb graphite cartridges directly connected under the Strata X-AW cartridges and previously conditioned with MeOH (5 mL). Extracts were finally concentrated to 300 µL (N₂, 42°C) and transferred into polypropylene injection vials.

2.4. Instrumental analysis

Analysis was performed using an Agilent 1200 Infinity HPLC coupled to a 6490 triple quadrupole mass spectrometer (Agilent Technologies, Massy, France) through a negative electrospray ionization source. The analytical separation column was a Zorbax Eclipse Plus C18 column (2.1 x 100 mm; 1.8 µm particle size). A Zorbax SB C18 column (2.1 x 30 mm; 3.5 µm particle size) was used as a trap to remove potential PFASs from the aqueous mobile phase; it was positioned immediately at the aqueous pump exit and before the mixing point with the second pump channel. Full details on chromatographic conditions as well as analyte quantitation and confirmation transitions are provided elsewhere [27].

2.5. Blanks and LOD calculation

Injection blanks remained free of analytes and ISs. Replicate procedural blanks (n=13) were run and consisted of 10 mL of ethanol going through the entire analytical procedure. The main PFASs reported in procedural blanks were PFHpA (0.05 ± 0.07 ng), PFOA (0.03 ± 0.03 ng), PFDA (0.05 ± 0.02 ng), PFUnDA (0.02 ± 0.02 ng) and FOSA (0.007 ± 0.005 ng). When analytes were found in procedural blanks, the limit of detection (LOD) was calculated as the standard deviation of blanks, multiplied by the $t_{n-1,95}$ student coefficient, n being the number of blank replicates [28]. Otherwise, the LOD was derived from the signal-to-noise ratio (SNR) observed in low-contaminated samples or in brown trout samples fortified at sub ng g⁻¹ level. When two transitions were followed (quantitation and confirmation), the transition with the lowest SNR was chosen for LOD calculation (SNR = 3).

3. Results and discussion

3.1. Optimization of extraction and clean-up

Non-spiked spotted seabass muscle tissues with naturally embedded PFAS analytes were used as a representative fish matrix to optimize the analytical procedure. In a preliminary experiment, the influence of extraction and purification conditions was investigated (**Fig.1**). MeOH has been previously reported as a suitable solvent for the extraction of PFASs from biologic matrices; it was therefore decided to initialize our optimization scheme with MeOH. Procedure B consisted in a MeOH microwave extraction followed by Strata X-AW and graphite clean-up, while procedure A only differed from procedure B by the addition of NaOH to the extraction solvent. Procedure C and D were designed as simplified versions of procedure B: extraction with MeOH followed by graphite clean-up (C) or extraction with MeOH and 200 mg of Oasis HLB (mixed with fish tissues) followed by graphite clean-up (D). No significant improvement was obtained with alkaline digestion (A), concurring with previous observations by Llorca et al. [19]. In the case of PFTeDA, configuration A was even largely outperformed by the three others. Procedures C and D proved satisfactory overall, except however in the case of FOSA. This was further confirmed after examination of the corresponding internal standard, a 50 % drop in the SNR of $^{13}\text{C}_8$ -FOSA being reported for procedures C and D when compared to the other two (data not shown), likely as a consequence of the absence of Strata X-AW clean-up. Thus, it was decided to select the tandem Strata X-AW / graphite clean-up that would most efficiently mitigate matrix effects and achieve the lowest LODs.

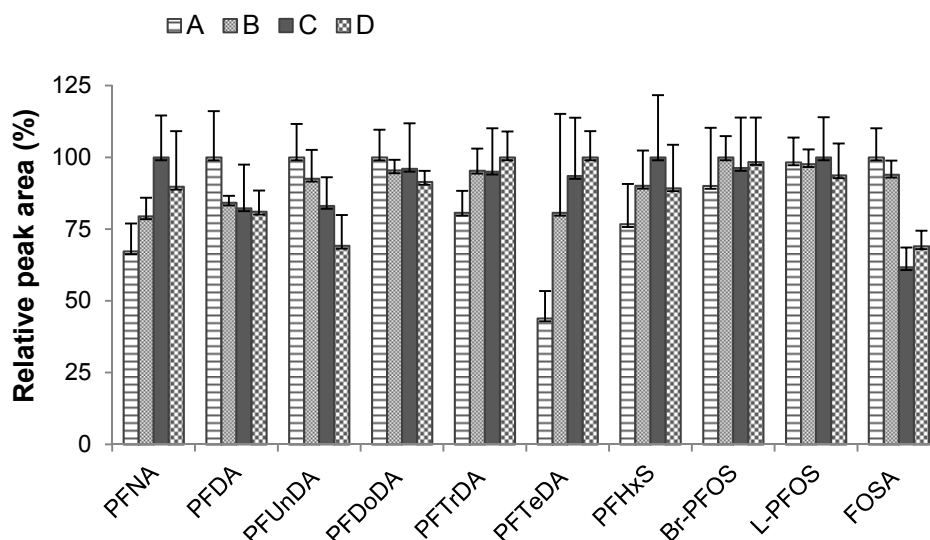


Fig.1: Effect of extraction and purification procedures on analyte relative peak area (performed on a spotted seabass muscle with naturally embedded analytes). A: MAE MeOH/NaOH 10 mM, Strata X-AW + graphite clean-up; B: MAE MeOH, Strata X-AW + graphite clean-up; C: MAE MeOH, graphite clean-up; D: MAE MeOH + 200 mg Oasis HLB (batch), graphite clean-up. Error bars indicate standard deviation (n=3).

To elicit maximum extraction efficiency, the influence of the extraction solvent was also examined. A moderately polar organic solvent such as MeOH is generally used to extract PFASs from biologic matrices [15-18, 21]. Besides MeOH, three additional solvents were tested in this study: Ultrapure Water, EtOH, and a 1:1 MeOH:Water mixture (Fig.2). Due to efficient internal standard correction, the quantification performances of the four procedures were basically equivalent (data not shown). However, the absolute peak area observed with water was 1.5–4 times lower than the three other mixtures, pointing to lower recoveries, especially for the most hydrophobic compounds (PFTeDA, L-PFOS, and FOSA) (Fig.2). Hence, water was ruled out and ethanol was selected as a less toxic alternative to organic solvents classically used for PFAS extraction.

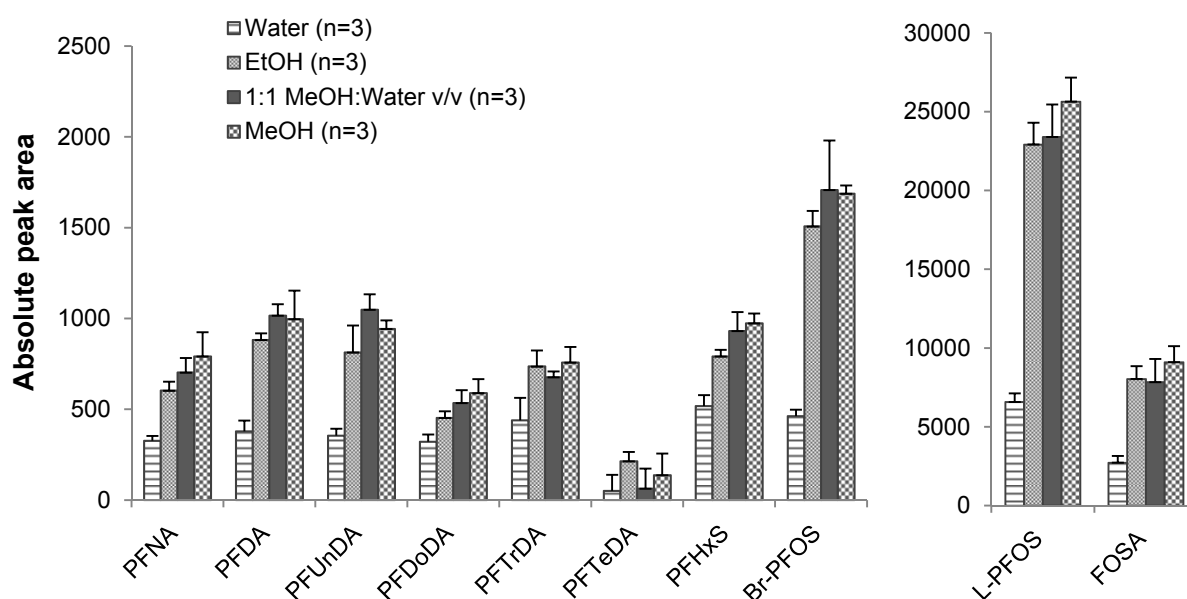


Fig.2: Effect of solvent nature on analyte absolute peak area (spotted seabass muscle with naturally embedded analytes). MAE was followed by Strata X-AW + graphite clean-up. Error bars indicate standard deviation (n=3).

Following the choice of ethanol, three microwave extraction parameters (temperature, solvent volume, and holding time at maximum temperature) were investigated (Fig.3). Optimization was conducted at two levels in a 2^{3-1} fractional factorial design (n=2 per condition), leading to a total of four conditions (a-d). A fifth condition (e) was also included in which all factors were set at the lowest levels (70°C, 10 mL, 5 min). The highest absolute peak areas were generally obtained for the conditions with the highest temperature level (c,d), and condition (c) was finally elected for its lower solvent volume and shorter extraction time (100°C, 10 mL, 5 min).

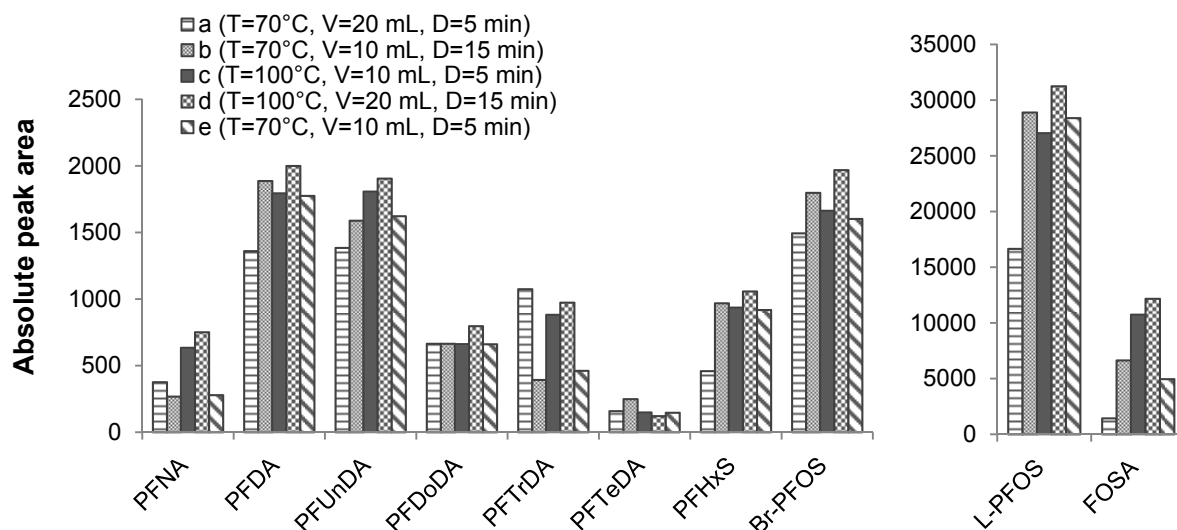


Fig.3: Effect of microwave extraction parameters (temperature, T; volume, V; holding time at maximum temperature, D) on analyte absolute peak area, performed on a spotted seabass muscle with naturally embedded analytes. MAE was followed by Strata X-AW + graphite clean-up. Each condition was replicated twice and ethanol was used as the extraction solvent.

The influence of the number of microwave cycles on extraction efficiency was finally investigated. Three consecutive extraction cycles were performed (each in triplicate) on the unspiked spotted seabass muscle, ISs being added post-extraction to each extract just after the filtration step. PFASs were seldom detected in the second extract, except in the case of PFUnDA and L-PFOS (respectively, 11 ± 9.4 % and 6.5 ± 1.3 % of the amount present in the first extract), while relative concentrations found in the third extract were negligible (< 1.5 %). A single microwave cycle was therefore deemed sufficient to quantitatively recover PFAS analytes from fish fillets.

3.2. Method validation

Table 1 displays the key figures of merit for the method performance. Calibration curves were produced with excellent linearity (range tested: 2–100 pg on column), and the coefficients of determination (R^2) ranged from 0.9975 to 0.9999. Instrumental limits of quantification fell in the range 270–1500 fg on column for PFCAs and below 200 fg on column for PFSA and FOSA.

Environmentally relevant detection limits (LODs) were reported, the lowest LODs being obtained for PFSA (0.01 – 0.02 ng g⁻¹ ww) and the highest for PFHpA (0.12 ng g⁻¹ ww). Matrix effects were determined on brown trout muscle extracts spiked post-extraction with both analytes and ISs. Matrix effects remained moderate (< 26 % for all analytes), advocating in favor of a solvent-based calibration curve for sample quantitation. The solvent-based approach yielded overall good performances in terms of accuracy or trueness (see also next paragraph).

Table 1: PFAS in-matrix method validation conducted on a spiked Kerguelen brown trout matrix. When applicable, standard deviation is given in brackets. Intraday and interday precision correspond to relative standard deviations (n=3 and 9, respectively).

	R ² (*)	R ² (**)	Instrumental LOQ (pg injected)	LOD (ng g ⁻¹ ww)	Recovery (%)	Recovery (%)	Accuracy (%)	Accuracy (%)	Intraday precision (%)	Interday precision (%)	Matrix effect (%)	Matrix effect (%)
Spike level (ng g ⁻¹ ww)					0.7	3	0.7	3	3	3	0.7	3
Replicates					3	3	3	3	3	9	3	3
PFHpA	0.9997	0.9992	0.31	0.12	93 (5)	94 (5)	100 (1)	111 (11)	5.0	7.5	+10 (16)	+4 (16)
PFOA	0.9996	0.9996	0.82	0.05	102 (1)	101 (7)	95 (2)	112 (6)	3.2	6.0	+22 (10)	+8 (15)
PFNA	0.9984	0.9986	0.50	0.02	98 (11)	98 (8)	91 (7)	109 (5)	3.0	4.8	+20 (7)	+16 (18)
PFDA	0.9989	0.9976	0.51	0.04	78 (13)	77 (4)	94 (4)	89 (1)	2.8	6.5	-13 (7)	-7 (8)
PFUnDA	0.9990	0.9995	0.27	0.03	99 (14)	93 (8)	101 (8)	102 (9)	1.2	5.7	+9 (16)	0 (9)
PFDoDA	0.9986	0.9975	0.45	0.05	90 (14)	95 (8)	106 (7)	106 (10)	5.1	8.8	-12 (8)	+8 (6)
PFTTrDA	0.9997	0.9954	0.29	0.05	82 (6)	88 (11)	126 (6)	104 (6)	11.2	6.7	-3 (7)	-2 (8)
PFTeDA	0.9997	0.9959	1.51	0.06	52 (13)	51 (15)	68 (5)	65 (3)	7.3	13.0	-13 (1)	-4 (4)
PFBS	1.0000	0.9992	0.11	0.01	73 (2)	69 (7)	88 (6)	69 (13)	8.9	19.0	-13 (7)	-13 (8)
PFHxS	0.9999	0.9991	0.16	0.01	87 (4)	93 (5)	77 (5)	100 (5)	4.1	4.0	+4 (10)	+3 (11)
PFHpS	0.9987	0.9990	0.09	0.02	93 (10)	101 (8)	112 (6)	106 (7)	5.3	12.4	-4 (12)	+1 (17)
L-PFOS	0.9999	0.9999	0.15	0.01	92 (9)	89 (8)	122 (4)	102 (2)	15.5	18.6	-13 (11)	0 (13)
PFDS	0.9998	0.9991	0.12	0.01	119 (10)	106 (6)	103 (1)	120 (9)	7.2	12.6	+26 (25)	+12 (16)
MeFOSAA	0.9974	0.9969	0.92	0.02	93 (11)	90 (3)	96 (9)	97 (7)	7.4	8.8	-5 (11)	-1 (6)
EtFOSAA	0.9999	0.9998	1.09	0.01	104 (8)	107 (8)	53 (4)	125 (12)	13.4	9.4	+9 (5)	+19 (10)
FOSA	0.9999	0.9999	0.05	0.01	81 (2)	94 (9)	99 (4)	104 (1)	3.9	3.1	-2 (8)	+4 (5)
MeFOSA	0.9999	0.9995	0.19	0.04	56 (14)	63 (8)	101 (14)	83 (6)	15.2	8.7	+4 (6)	-5 (19)
EtFOSA	0.9993	0.9994	0.35	0.07	88 (5)	91 (2)	116 (8)	130 (11)	6.1	8.5	+8 (5)	+12 (6)
6:2 FTSA	0.9968	0.9930	0.47	0.01	84 (5)	85 (0)	98 (3)	100 (7)	7.3	7.1	-1 (1)	0 (7)

(*) $A_{\text{analyte}} = f(m_{\text{analyte}})$. (**) $A_{\text{analyte}} / A_{\text{IS}} = f(m_{\text{analyte}} / m_{\text{IS}})$.

Method recovery, repeatability, reproducibility, as well as accuracy were assessed on brown trout tissues fortified at two levels (0.7 and 3 ng g⁻¹ ww), in triplicate. Adequate recovery rates were obtained (51–119 %) and were not influenced by the spike level. Repeatability and reproducibility were excellent since intraday precision ranged between 1.2 and 15.5 % and interday precision between 3.1 and 19.0 %. Method accuracy was determined on brown trout tissues spiked with native PFASs along with ISs at the beginning of the extraction procedure. Regardless of spike level, accuracy rates generally remained between 80–120 %, with the exception of PFTeDA or EtFOSAA (53–125 %). In addition, method trueness was verified via analysis of a reference sample (NIST SRM 1947 Lake Michigan Fish Tissue). The 5.88 ± 0.72 ng g⁻¹ ww PFOS concentration determined with our method (n=5) compared favorably with that of the calculated reference value (5.90 ± 0.39 ng g⁻¹ ww) [26], with individual Z-scores in the range 0.08–2.7. Long-chain PFCAs (C₉–C₁₄) or FOSA were reported between 0.1–0.2 ng g⁻¹ ww, in reasonable agreement with the information values provided by Reiner et al. [26].

3.3. Application to environmental analysis

Method applicability was assessed through the analysis of a selection of fish fillets from the Gironde estuary (n=13). PFASs were ubiquitous in these samples, L-PFOS, Br-PFOS and PFUnDA being systematically detected, while high frequencies of detection were also reported for highly bioaccumulative PFCAs such as PFDA, PFDoDA and PFTrDA (75–94 %) (Table 2). On average, the molecular profile was largely dominated by L-PFOS (55 ± 8 % of Σ PFASs), consistent with PFAS patterns commonly found in aquatic wildlife [6]. Σ PFASs was in the range 2.7–4.5, 0.9–4.2 and 0.9–4.6 ng g⁻¹ ww for common seabass, mullets and European eels, respectively.

The concentrations determined in this study fell several orders of magnitude lower than those of fish from heavily anthropized freshwater environments in Europe such as the Orge River near Paris, France (Σ PFCAs: 13–26 ng g⁻¹ ww; Σ PFASs: 25–76 ng g⁻¹ ww) [18], or the Llobregat River basin near Barcelona, Spain (Σ PFASs: 225–2520 ng g⁻¹ ww) [29]. These results provide additional evidence for the widespread dissemination of PFASs in aquatic biota, even in a relatively preserved ecosystem such as the Gironde estuary.

Table 2: PFAS concentrations (ng g⁻¹ ww) determined in fillets of common seabass (“CSB”), mullets (“Mul”), and European eels (“EE”) from the Gironde estuary (not detected: PFHpA, PFOA, PFBS, MeFOSAA, MeFOSA, EtFOSA, 6:2 FTSA). Concentrations were all blank-corrected. The mass (ng) found in procedural blanks (n=13) is indicated at the bottom of the table, as well as the corresponding standard deviation (SD). PFAS concentrations in the spotted seabass (“SSB”) matrix used for method optimization purposes are also provided.

Sample Code	Length (cm)	Weight (g)	Water content (%)	Concentration (ng g ⁻¹ ww)													ΣPFASs
				PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTTrDA	PFTeDA	PFHxS	PFHpS	Br-PFOS	L-PFOS	PFDS	EtFOSAA	FOSA	
CSB1	28.4	313.3	77	0.02	0.05	0.09	<0.05	<0.05	<0.06	<0.01	0.02	0.18	1.9	0.01	<0.01	0.47	2.7
CSB2	31.3	505.6	76	<0.02	0.09	0.12	0.08	0.18	<0.06	0.02	0.03	0.36	2.5	<0.01	<0.01	1.1	4.5
CSB3	36	559.8	76	0.05	0.16	0.23	0.38	0.61	0.21	0.03	0.02	0.29	1.9	0.02	<0.01	0.32	4.3
Mul1	22.2	113.3	77	0.03	0.05	0.06	<0.05	<0.05	<0.06	<0.01	<0.02	0.13	0.56	<0.01	<0.01	0.06	0.9
Mul2	18.4	51.7	78	0.10	0.45	0.27	0.16	0.12	<0.06	<0.01	<0.02	0.17	1.3	0.01	0.04	0.16	2.8
Mul3	19.2	62.5	78	0.03	0.12	0.08	0.06	<0.05	<0.06	<0.01	<0.02	0.10	0.50	<0.01	0.02	0.06	1.0
Mul4	17.8	51.9	78	0.08	0.21	0.13	0.06	<0.05	<0.06	<0.01	<0.02	0.30	1.4	<0.01	<0.01	0.11	2.3
Mul5	18.4	51.1	77	0.11	0.54	0.34	0.21	0.18	<0.06	<0.01	<0.02	0.30	2.2	0.01	0.06	0.23	4.2
EE 1	57	285.4	56	0.07	0.10	0.09	0.11	0.11	0.09	0.04	<0.02	0.16	1.1	0.01	<0.01	<0.01	1.9
EE 2	69.5	557.6	62	0.05	0.05	0.08	<0.05	0.06	<0.06	0.03	<0.02	0.09	0.52	<0.01	<0.01	<0.01	0.9
EE 3	56	279.0	60	0.10	0.26	0.37	0.47	0.72	0.56	0.05	0.04	0.22	1.8	0.02	<0.01	<0.01	4.6
EE 4	56	297.5	60	0.04	<0.04	0.10	0.08	0.12	0.10	0.03	<0.02	0.07	0.78	0.01	<0.01	<0.01	1.4
EE 5	55.8	297.1	52	0.10	0.14	0.13	0.16	0.29	0.20	0.20	0.03	0.16	1.8	<0.01	<0.01	<0.01	3.2
SSB matrix	29	316.8	77	0.07	0.13	0.13	0.11	0.15	0.07	0.06	0.02	0.13	2.3	0.02	<0.01	0.48	3.6
Mean blank (ng)	-	-	-	0.004	0.05	0.02	ND*	ND	ND	0.002	ND	0.003	0.002	ND	ND	0.007	
Blank SD (ng)	-	-	-	0.01	0.02	0.02	-	-	-	0.008	-	0.004	0.003	-	-	0.005	

*ND: analyte not found in procedural blanks.

4. Conclusions

In the present study, microwave-assisted extraction was proposed for the extraction of PFASs, for the first time. A limited amount of solvent (10 mL) and short holding time at maximum temperature (5 min at 100°C) were sufficient to exhaustively recover analytes in a single microwave extraction cycle. While water was discarded as the extraction solvent because of the lower recoveries observed for the most hydrophobic compounds, ethanol was preferred for a less toxic alternative to organic solvents classically used for PFAS extraction. The addition of internal standards at the beginning of the procedure compensated for potential recovery losses or matrix effects, making solvent-based calibration suitable for PFAS quantitation. Environmentally relevant limits of detection were achieved (0.01–0.12 ng g⁻¹ ww), allowing unequivocal detection of various PFAS analytes in selected fish samples from the Gironde estuary.

Acknowledgements

This study has been carried out with financial support from the French National Research Agency (ANR) in the frame of the “Investments for the future” Program, within the Cluster of Excellence COTE (ANR-10-LABX-45). IdEx Bordeaux (ANR-10-IDEX-03-02) provided the PhD grant allocated to G. Munoz. Seabass and mullet samples were from the PFC-Gironde project (EC2CO-Ecodyn CNRS/INSU), European eels from the IMMORTEEL program (ANR-10-INTB-1704), and brown trout samples collected through the ANR-funded RISKER project. The Aquitaine Region and the European Union (CPER A2E project) are acknowledged for their financial support. Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund.

References

- [1] K. Prevedouros, I.T. Cousins, R.C. Buck, S.H. Korzeniowski, *Environ. Sci. Technol.* 40 (2006) 32–44.
- [2] J.P. Giesy, K. Kannan, *Environ. Sci. Technol.* 35 (2001) 1339–1342.
- [3] C. Lau, K. Anitole, C. Hodes, D. Lai, A. Pfahles-Hutchens, J. Seed, *Toxicol. Sci.* 99 (2007) 366–94.
- [4] J.L. Domingo, *Environ. Int.* 40 (2012) 187–195.
- [5] R. Vestergren, U. Berger, A. Glynn, I.T. Cousins, *Environ. Int.* 49 (2012) 120–127.
- [6] M. Houde, A.O. De Silva, D.C.G. Muir, R.J. Letcher, *Environ. Sci. Technol.* 45 (2011) 7962–7973.
- [7] N. Luque, A. Ballesteros-Gómez, S. van Leeuwen, S. Rubio, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 3774–3782.
- [8] R. Vestergren, S. Ullah, I.T. Cousins, U. Berger, *J. Chromatogr. A* 1237 (2012) 64–71.

- [9] A. Jahnke, U. Berger, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 410–421.
- [10] K.J. Hansen, L.A. Clemen, M.E. Ellefson, H.O. Johnson, *Environ. Sci. Technol.* 35 (2001) 766–770.
- [11] R. Bossi, F.F. Riget, R. Dietz, C. Sonne, P. Fauser, M. Dam, K. Vorkamp, *Environ. Pollut.* 136 (2005) 323–329.
- [12] J. Olivero-Verbel, L. Tao, B. Johnson-Restrepo, J. Guette-Fernández, R. Baldiris-Avila, I. O’byrne-Hoyos, K. Kannan, *Environ. Pollut.* 142 (2006) 367–372.
- [13] R. Dietz, F.F. Rigét, A. Galatius, C. Sonne, J. Teilmann, R. Bossi, *Sci. Total Environ.* 414 (2012) 732–737.
- [14] S.P.J. van Leeuwen, J. de Boer, *J. Chromatogr. A* 1153 (2007) 172–185.
- [15] S. Taniyasu, K. Kannan, M.K. So, A. Gulkowska, E. Sinclair, T. Okazawa, N. Yamashita, *J. Chromatogr. A* 1093 (2005) 89–97.
- [16] A.D. Delinsky, M.J. Strynar, S.F. Nakayama, J.L. Varns, X. Ye, P.J. McCann, A.B. Lindstrom, *Environ. Res.* 109 (2009) 975–984.
- [17] B.C. Kelly, M.G. Ikonomou, J.D. Blair, B. Surridge, D. Hoover, R. Grace, F.A.P.C. Gobas, *Environ. Sci. Technol.* 43 (2009) 4037–4043.
- [18] P. Labadie, M. Chevreuil, *Environ. Pollut.* 159 (2011) 391–397.
- [19] M. Llorca, M. Farré, Y. Picó, D. Barceló, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 7195–7204.
- [20] U. Berger, M. Haukas, *J. Chromatogr. A*, 1081 (2005) 338–343.
- [21] D. Bertin, B.J.D. Ferrari, P. Labadie, A. Sapin, J. Garric, H. Budzinski, M. Houde, M. Babut, *Environ. Pollut.* 189 (2014) 27–34.
- [22] C. Gomez, J. Vicente, B. Echavarri-Erasun, C. Porte, S. Lacorte, *Mar. Pollut. Bull.* 62 (2011) 948–955.
- [23] I. Zabaleta, E. Bizkarguenaga, A. Iparragirre, P. Navarro, A. Prieto, L.A. Fernández, O. Zuloaga, *J. Chromatogr. A* 1331 (2014) 27–37.
- [24] C. Sparr Eskilsson, E. Björklund, *J. Chromatogr. A* 902 (2000) 227–250.
- [25] L. Sanchez-Prado, C. Garcia-Jares, M. Llompарт, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 2390–2414.
- [26] J.L. Reiner, S.G. O’Connell, C.M. Butt, S.A. Mabury, J.M. Small, A.O. De Silva, D.C.G. Muir, A.D. Delinsky, M.J. Strynar, A.B. Lindstrom, W.K. Reagen, M. Malinsky, S. Shäfer, C.J.A.F. Kwadijk, M.M. Schantz, J.M. Keller, *Anal. Bioanal. Chem.* 404 (2012) 2683–2692.
- [27] G. Munoz, J.L. Giraudel, F. Botta, F. Lestremau, M.H. Dévier, H. Budzinski, P. Labadie, *Sci. Tot. Environ.* 517 (2015) 48–56.
- [28] D. Muir, E. Sverko, *Anal. Bioanal. Chem.* 386 (2006) 769–789.
- [29] J. Campo, F. Pérez, A. Masiá, Y. Picó, M. Farré, D. Barceló, *Sci. Tot. Environ.* 503–504 (2015) 48–57.

III.2. Détermination des PFAS dans le plasma d'oiseaux marins par extraction sur phase solide en ligne couplée à la chromatographie liquide et à la spectrométrie de masse en tandem

Résumé

Au début des années 2000, le caractère ubiquiste du perfluorooctane sulfonate (PFOS) chez les êtres vivants était révélé, y compris pour des espèces arctiques ou antarctiques. Etant donné leur longévité et leur position aux niveaux trophiques supérieurs, les oiseaux marins sont des organismes sentinelles pertinents pour la biosurveillance des PFAS compte tenu du caractère bioamplifiable de ces composés. Dans ce contexte, une méthode robuste, sensible et rapide a été développée pour l'analyse de vingt-six composés poly- et perfluoroalkylés (PFAS) dans le plasma d'oiseaux marins antarctiques et subantarctiques. La méthode décrite dans le présent chapitre requiert une faible prise d'essai (25 μ L) et repose sur une stratégie de prétraitement minimale de l'échantillon, à savoir une précipitation des protéines en présence d'acétonitrile suivie d'une étape de centrifugation/filtration avant dilution des extraits avec de l'eau ultra-pure. L'analyse des PFAS est alors réalisée par extraction en phase solide en ligne (Oasis HLB) associée à la chromatographie liquide couplée à une source d'ionisation électrospray et à la spectrométrie de masse en tandem (LC/ESI-MS/MS). L'optimisation de la procédure a été conduite à l'aide de plans d'expériences afin de prendre en compte d'éventuelles interactions entre facteurs. Pour la majorité des analytes ciblés (23/26), d'excellentes performances ont été obtenues sur plasma de poulet fortifié en termes de rendement de préparation (62–111 %), d'exactitude (\pm 25 % de la valeur attendue) ou d'effets matriciels (< 25 %). Par ailleurs, l'analyse d'échantillons de référence de sérum humain (NIST SRM 1957) a été incluse afin d'évaluer la justesse de la méthode. Les limites de détection de l'ordre de 0,003 à 0,1 ng g⁻¹ de plasma ont été rapportées pour l'ensemble des analytes ciblés dans notre étude. Cette méthode a été appliquée à une sélection d'échantillons de plasma d'oiseaux marins, collectés en Terre Adélie (pétrel des neiges *Pagodroma nivea*, skua antarctique *Stercorarius maccormicki*) ou au niveau des îles Crozet (manchot royal *Aptenodytes patagonicus*). Onze composés sur les vingt-six ciblés ont été détectés dans ces échantillons, la Σ PFAS étant de l'ordre de 0.37–19 ng g⁻¹ de plasma, avec une nette prédominance du PFOS (> 54 % de la Σ PFAS en moyenne). La prise d'essai réduite (25 μ L) implique que cette méthode pourrait être transposable à l'analyse de PFAS chez des oiseaux de plus petite taille (ex : passereaux).

Gabriel Munoz¹, Pierre Labadie², Emmanuel Geneste¹, Patrick Pardon¹, Sabrina Tartu³, Olivier Chastel³ and Hélène Budzinski^{2,*}

²: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, Talence F-33400, France.

³: Centre d'Etudes Biologiques de Chizé (CEBC), UMR 7372-ULR CNRS, Villiers-en-Bois F-79360, France.

*Contact: helene.budzinski@u-bordeaux.fr

To be submitted to

Journal of Chromatography A

Highlights

- 26 PFASs investigated in seabird plasma, using very small sample amount (25 μL).
- Method optimization conducted with the help of experimental design (DOE).
- In-matrix method validation: analysis of spiked and reference plasma samples.
- LODs: 0.003–0.1 ng g^{-1} plasma. Method trueness: $|Z\text{-scores}| < 2$ for most compounds.
- South polar skuas displayed notable levels of PFOS and PFUnDA (0.84–9.8 ng g^{-1} plasma).

Abstract

We report on a fast, accurate and rugged analytical procedure to determine a wide span of poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) in seabird plasma. The method described herein requires a reduced sample amount (25 μL) and involves rapid and simple sample preparation (protein precipitation with acetonitrile but without acidification) prior to analysis by on-line solid phase extraction (with Oasis HLB sorbent) coupled to high performance liquid chromatography negative electrospray ionization tandem mass spectrometry (HPLC-ESI-MS/MS). Optimization was conducted using experimental designs to account for potential interactions between method parameters. 23 out of 26 target analytes showed acceptable recovery rates (62–111 %) and excellent accuracy (± 25 % of the target values). Overall, the slight matrix effects observed (< 25 % for most analytes) advocated in favor of a solvent-based calibration curve. Intra-day and inter-day precision ranged between 2–26 % and 3–44 %, respectively. A human serum standard reference material (NIST SRM 1957) was also included in the validation scheme to evaluate method trueness ($|Z\text{-scores}| < 2$ for most compounds). Limits of detection were as low as 0.003–0.1 ng g^{-1} plasma, which allowed for the quantitation of 11 target PFASs in Antarctic seabird plasma samples: ΣPFASs in plasma ranged from 0.37 to 19 ng g^{-1} , with a predominance of PFOS (> 54 % of ΣPFASs on average). The reduced plasma amount required implies that the present method could also be applied to the analysis of PFASs in the plasma of smaller biological models.

Keywords

Polyfluoroalkyl substances – Antarctica – Seabird plasma – On-line solid phase extraction – Experimental design optimization

1. Introduction

The increasing prevalence of poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) in the environment has been reported and is of growing concern. PFASs are man-made fluoroalkylated chemicals that have been manufactured and used for decades for their excellent surfactant properties [1]. Since the first papers raised awareness of the widespread occurrence of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in wildlife and humans [2–3], further evidence have been regularly adduced to document the persistence, bioaccumulation and toxicity of PFASs [4–7]. In addition, there are strong indications that these compounds may undergo biomagnification within food webs, especially long-chained congeners [6,8]. The Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants was appended to include PFOS and several related compounds in 2009. Although PFOS is still produced in China [9], it has been hypothesized that most manufacturers in the world have shifted their production toward shorter-chain alternatives or novel PFAS chemistries [10–12]. However, information on environmental occurrence or exposure assessment of fluorinated alternatives remains sparse [12,13].

PFASs are now recognized as ubiquitous contaminants, being detected in all environmental media, from strongly anthropized freshwater ecosystems [14–16] to areas with lower anthropogenic impact such as the open ocean [17–20] or remote polar areas [6,21]. Long-range atmospheric transport of volatile precursors and their subsequent degradation to more environmentally persistent forms such as perfluoroalkyl sulfonates (PFASs) or perfluoroalkyl carboxylates (PFCAs) has been postulated to explain the occurrence of PFASs in polar regions [21,22]. Other plausible hypotheses include direct long-range oceanic transport of ionic PFASs [17–20] and inputs from local contamination sources (e.g., local airports, research stations) [23,24]. However, the relative contribution of each of these pathways is still elusive [21,25]. To date, PFAS biomonitoring surveys in polar areas have mainly focused on the Arctic environment [6,21,26,27]. In spite of the paucity of available information on Antarctica, a few studies did report data for Antarctic seawater [19] or wildlife [28–30], including seabirds. Seabirds are top predators, generally long-lived, which are particularly at risk considering the biomagnification potential of some PFASs. Recent papers have further investigated correlations between PFAS levels in Arctic seabirds and the risk of endocrine disruption, decreased hatching success or developmental impairment [31,32]. Thus, seabirds constitute relevant sentinel organisms to investigate the occurrence and effects of PFASs in polar ecosystems.

Conventional methods to extract PFASs from biological tissues are relatively cumbersome to implement, requiring labor-intensive off-line extraction and clean-up procedures, as well as a significant amount of sample material possibly implying animal sacrifice. In order to protect wildlife, a more conservative approach lies in the use of non-lethal sampling methods (e.g., feather or blood sampling). The off-line extraction method of PFASs from blood proposed by Kannan and coworkers [33] used an ion-pairing extraction technique initially introduced by Hansen et al. [34] and that was widely implemented thereafter [35–39]. Alternatively, methods based on reduced sample preparation and on-line concentration coupled to high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) have been reported, and their suitability for the analysis of PFASs in aqueous biologic samples such as human breast milk [40] or plasma [40–45] has been demonstrated, using a typical 100–300 µL sample volume.

Here, a rapid method was developed for the determination of 26 legacy and emerging PFASs in Antarctic seabird plasma, using very small sample volume (25 μ L) and simple preparation prior to on-line solid phase extraction (SPE) coupled to HPLC-MS/MS. The development of the analytical procedure was conducted with the help of experimental design to identify optimum operating conditions. The method was then validated by evaluating instrumental and matrix-based detection limits, dynamic range, as well as recovery, precision, accuracy, and matrix effects on fortified chicken plasma. The analysis of a human serum standard material (NIST SRM 1957) was also included to assess method trueness. The method was successfully applied to a selection of seabird plasma samples, providing valuable insights into the occurrence of legacy and emerging PFASs in Antarctic biota.

2. Experimental

2.1. Chemicals and standards

Solutions of native PFASs had chemical purities greater than 98 % for individual compounds and were all acquired from Wellington Laboratories (BCP Instruments, Irigny, France). Target molecules included PFCAs (PFPeA, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTeDA and PFTeDA), PFSA (PFBS, PFHxS, PFHpS, linear PFOS (L-PFOS) and PFDS), perfluorooctane sulfonamide (FOSA) and its N-alkylated derivatives (MeFOSA and EtFOSA), N-alkylated perfluorooctane sulfonamido acetic acids (MeFOSAA and EtFOSAA), fluorotelomer sulfonates (4:2 FTSA, 6:2 FTSA and 8:2 FTSA), and polyfluoroalkyl phosphate diesters (6:2 diPAP, 8:2 diPAP and diSAmPAP). For perfluorooctane sulfonate branched isomers (Br-PFOS), concentrations were calculated from the calibration curve used for L-PFOS. Solutions of isotopically labelled compounds (internal standards, ISs) had chemical purities greater than 98 % and isotopic purities greater than 99 %, and were all purchased from Wellington Laboratories. $^{13}\text{C}_2$ -PFHxA, $^{13}\text{C}_4$ -PFOA, $^{13}\text{C}_2$ -PFDA, $^{13}\text{C}_2$ -PFUnDA, $^{13}\text{C}_2$ -PFDoDA, $^{13}\text{C}_2$ -PFTeDA, $^{18}\text{O}_2$ -PFHxS, $^{13}\text{C}_4$ -PFOS, D_3 -N-MeFOSAA, $^{13}\text{C}_8$ -FOSA, D_3 -N-MeFOSA, D_5 -N-EtFOSA, $^{13}\text{C}_2$ -6:2 FTSA and $^{13}\text{C}_4$ -6:2 diPAP were used as ISs. The full name of target analytes and corresponding ISs is supplied in the Supporting Information (SI) (**Tables S1-S2**).

Methanol (MeOH), acetonitrile (ACN) and HPLC-water (Baker analyzed LC-MS reagent) were from J.T. Baker (Atlantic Labo, Bruges, France). Ammonium acetate ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) for HPLC (≥ 99.0 %) was from Sigma-Aldrich (S^t Quentin Fallavier, France) while formic acid (HCOOH) (≥ 99.0 %, LC-MS reagent) was from J.T. Baker (Deventer, Netherlands). Costar 2 mL polypropylene centrifuge tubes (0.22 μm nylon filter) were from Corning Incorporated (NY, USA). Oasis HLB on-Line SPE columns (2 x 10 mm, $d_p = 25\text{--}35$ μm) were from Waters (Guyancourt, France) while on-Line PLRP-S columns (2.1 x 12.5 mm, $d_p = 15\text{--}20$ μm) were from Agilent Technologies (Massy, France). Chicken plasma was acquired from Sigma-Aldrich (S^t Quentin Fallavier, France).

2.2. Sample collection

South polar skua (*Stercorarius maccormicki*) and snow petrel (*Pagodroma nivea*) plasma samples were collected at Adelie Land (French Antarctic Territory Terre Adélie, Antarctica, 66°40'S, 140°01'E), while king penguin (*Aptenodytes patagonicus*) plasma samples were sampled at Ile de la Possession

(French Antarctic Territory Crozet Island, Subantarctic Islands, 46°24'S, 51°45'E) in 2013. All samples were collected from chick-rearing adults. An overview of the sampling areas is presented in the SI (**Fig.S1**). Blood samples were collected from the alar vein with a heparinized syringe, centrifuged, and plasma was finally recovered and stored in polypropylene tubes at -20°C until further analysis.

2.3. Sample preparation and analysis

The addition of plasma sample aliquots and ISs was systematically controlled by gravimetry. 25 µL of plasma were weighed (~ 25 mg) in 2 mL polypropylene Eppendorf tubes, along with ISs (30 pg each). Following protein precipitation with 100 µL of ACN, extracts were centrifuged (24,000 x g, 10 min), and the supernatant was transferred to 2 mL polypropylene centrifuge tubes (0.22 µm nylon filter). Following centrifugation of the latter (7,000 x g, 3 min), extracts were finally transferred to 2 mL auto sampler glass vials and diluted with 675 µL of HPLC-water. Extracts were briefly vortexed and then processed using an Agilent Technologies (Massy, France) on-line SPE platform which comprises a standard auto sampler (1260 Infinity ALS), a quaternary pump (1260 Infinity Quaternary Pump VL), a switch valve (1200 2 Position/6 Port Valve) and an on-line SPE column support (1200 6 Position Selection Valve), all of which were automatically controlled via the Acquisition module of the Agilent Mass Hunter software. Sample enrichment by on-line SPE was achieved as follows: after sampling 400 µL of extract at 500 µL min⁻¹ by the auto sampler, extracts are loaded at 600 µL min⁻¹ onto an Oasis HLB on-line SPE column (**Fig.1a**). The switch valve is then commuted (**Fig.1b**) and analytes are eluted in back-flush mode at 300 µL min⁻¹ and transferred onto an analytical column (Agilent C₁₈ Poroshell, 2.1 x 100 mm, 2.7 µm) coupled to a negative electrospray ionization interface and a 6490 triple quadrupole mass spectrometer (Agilent Technologies) operated in dynamic multiple reaction monitoring mode. To extend the life time of the analytical column and prevent gradual clogging of the latter, an Agilent Poroshell 120 SB C₁₈ guard column (2.1 x 5 mm, 2.7 µm) was connected to the analytical column inlet. Also note that a Zorbax SB C₁₈ column (2.1 x 30 mm, 3.5 µm) was used as a trap to remove potential PFAS contamination originating from the aqueous mobile phase; it was positioned immediately at the aqueous pump exit and before the mixing point with the second pump channel [16]. On-line SPE and analytical gradient conditions are provided in **Table 1**, and full details regarding mass spectrometry acquisition parameters are enclosed in the SI (**Table S3**).

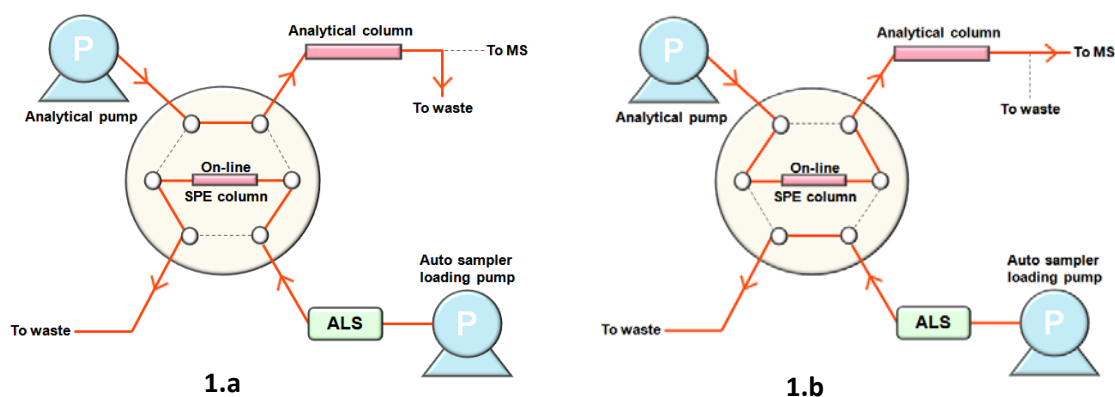


Fig.1. Schematic view of the on-line SPE HPLC-MS/MS system in sample loading (**1.a**) and analytical gradient elution (**1.b**) mode.

Table 1. Gradient conditions for the analytical pump and on-line SPE loading pump. Mobile phases used: i) analytical pump: A = Milli-Q water containing 2 mM CH₃COONH₄; B = ACN / Milli-Q water 95:5 (v/v) containing 2 mM CH₃COONH₄; ii) on-line SPE auto sampler pump: A* = HPLC-water; B* = ACN.

Analytical pump				On-line SPE loading pump			
Time (min)	A (%)	B (%)	Flow rate ($\mu\text{L min}^{-1}$)	Time (min)	A* (%)	B* (%)	Flow rate ($\mu\text{L min}^{-1}$)
0.00*	80	20	300	0.01	0	100	500
0.60	80	20	300	2.00	0	100	500
6.00	25	75	300	2.50	100	0	200
6.50	0	100	300	8.90	100	0	500
9.50	0	100	300	12.50	100	0	500
10.00	80	20	300				
12.50	80	20	300				

* t = 0 corresponds to the beginning of the mass spectrometric acquisition, i.e. beginning of the back-flush elution (on-line SPE loading step not included in this table).

2.4. Method optimization

An exploratory test was first conducted in HPLC-water samples spiked at 15 pg mL^{-1} to select the SPE sorbent (HLB Vs PLRP-S) and to investigate the effect of formic acid addition (0.1 % HCOOH v/v) (pH ~3) on analyte retention. For this preliminary experiment, the loading volume was fixed at 300 μL while sample transfer rate from the injection loop to the on-line SPE column (loading speed) was set at 600 $\mu\text{L min}^{-1}$. The residual organic solvent percentage resulting from spiking native analytes into HPLC-water was approximately 0.1 % (v/v). Following the choice of adequate on-line SPE column and pH conditions, complementary experiments were run with spiked HPLC-grade water samples, to evaluate the combined influence of organic solvent percentage (MeOH or ACN) (% of organic modifier in HPLC-water varied between 0.1 and 12.5 % v/v) and on-line SPE loading volume (varied between 200 and 800 μL) on analyte retention. Combinations were studied through a full factorial experimental design.

The choice of the protein precipitation solvent was conducted using unspiked seabird plasma samples. For each matrix type (namely, snow petrels, king penguins and skuas), 25 μL aliquots of plasma were submitted to the procedure described in 2.3, the protein precipitation solvent being either ACN (n = 3) or MeOH (n = 3). Internal standards (30 pg each) were added post-sample preparation to evaluate differences in ionization suppression or enhancement between the two procedures.

On-line SPE loading speed and loading volume were highly likely to interact. The latter were therefore optimized simultaneously, using a full factorial design, loading speed being varied between 200–1000 $\mu\text{L min}^{-1}$ and loading volume between 200–600 μL . Each combination was analyzed in triplicate and during the same working day, but run in random order to attenuate the impact of lurking variables [46]. These tests were performed on a pool of chicken plasma samples prepared as described in 2.3 (except for IS addition), spiked post-preparation at 120 pg mL^{-1} with native analytes and subsequently aliquoted.

2.5. Method validation

For validation purposes, a chicken plasma matrix with non-detectable PFAS analytes was used as a proxy for seabird plasma matrix.

Analyte recovery during sample preparation was assessed at two fortification levels (0.5 and 5 ng g⁻¹ plasma), in quintuplicate. For each replicate, recovery (expressed in %) was calculated using **Eq.1**:

$$\text{Recovery} = 100 \times S_{\text{Before}} / S_{\text{After}} \text{ (Eq.1)}$$

with S_{Before} the analyte to IS area ratio (corrected by the analyte to IS mass ratio) observed in a chicken plasma aliquot spiked before sample preparation with native analytes (ISs being added post-sample preparation) and S_{After} the mean ($n = 3$) analyte to IS area ratio (corrected by the analyte to IS mass ratio) in chicken plasma samples spiked post-sample preparation with native analytes jointly with ISs (30 pg each). Using this methodology, the recovery rates reported should not be excessively affected by matrix effects.

Method repeatability and reproducibility were also evaluated at two fortification levels (0.5 and 5 ng g⁻¹ plasma) by spiking target analytes jointly with mass-labelled ISs (30 pg each) at the beginning of the preparation procedure. Therefore, the reported precision accounted for the variability inherent to both sample preparation and instrumental analysis. Intra-day precision was calculated as the relative standard deviation of 5 replicates prepared and analyzed on the same working day. The process was repeated on a second and third working day and inter-day precision derived from the overall relative standard deviation ($n = 11$).

Method accuracy was evaluated by replicate analyses of chicken plasma samples spiked at two different concentrations (0.5 and 5 ng g⁻¹, $n = 5$ for each level) and expressed as a percentage of the expected value. The analysis of a human serum standard reference material (NIST SRM 1957) ($n = 5$) was also included to assess method trueness.

Linearity was examined through a two-fold approach, one solvent-based and one by standard additions of analytes to chicken plasma (spiked post-sample preparation). In both cases, 10-point calibration curves were built, the IS mass added being kept constant (30 pg each) and the levels used for target analytes ranging between 0.02 and 40 ng g⁻¹ plasma (extrapolated on the basis of a 25 mg aliquot of plasma sample). Analyte to IS area response ratios were plotted against analyte to IS concentration ratio by using either linear or quadratic models (1/x weighted regression), depending on the analyte. The matrix effect on the whole concentration range was finally evaluated by comparing the regression coefficients obtained by the two approaches.

2.6. Quality control and data analysis

HPLC-water aliquots ($n = 20$) were run between each seabird plasma samples, and contained low yet detectable amounts of 6:2 diPAP, PFUnDA and FOSA (estimated injected amounts of 2.6, 0.23 and 0.011 pg, respectively). Overall, injection blank replicates were reproducible; in addition, PFOS (the dominant compound in seabird plasma samples) was not detected in these injection blanks,

suggesting minimal carryover. This implies that samples can be injected consecutively without any risk of cross-contamination, increasing overall sample throughput.

A total of 12 procedural blanks were analyzed, and consisted of 25 μL of HPLC-water that went through the entire analytical procedure. PFOA, FOSA and 6:2 diPAP were systematically detected, and PFUnDA or PFHpA also frequently reported (10/12). Other analytes such as PFHxA, PFDA or PFTrDA were only found sporadically (3/12) (see SI **Table S4** for full details).

For those analytes found in procedural blanks, levels were blank-corrected and the limits of detection (LODs) were determined as the standard deviation of the blanks multiplied by the $t_{n-1,95}$ student coefficient, with n the number of blank replicates [47]. Otherwise, the LOD was derived from the signal-to-noise ratio (SNR) observed in either low-contaminated seabird plasma samples (typically, 0.1–1 ng g^{-1} plasma) or in chicken plasma samples spiked at 0.5 ng g^{-1} . When two transitions were followed (quantitation and confirmation), the transition with the lowest SNR was chosen for LOD calculation (SNR = 3). The limit of quantification (LOQ) was then defined as the most stringent of the two following approaches: i) calculated as 3 x LOD or ii) set at the lowest acceptable level of the calibration curve.

Positive identification of target analytes was based on matching retention times (tolerance: $\pm 2.5\%$), SNR > 3 for both quantitation (Q) and confirmation (C) transitions, when applicable, and a Q/C response ratio deviating < 25 % from the expected value.

Statistics were performed with the Sigmaplot™ 11.0 (Systat Software) and R statistical software (R version 2.15.3, R Core Team, 2013). Statistical significance was defined as $p < 0.05$.

3. Results and discussion

3.1. Optimization of sample preparation and on-line SPE settings

Sample preparation and analytical operating conditions should be carefully designed to elicit maximum analyte recovery and yield the finest possible LODs. In the initial stages of the optimization process, the influence of sample pH and on-line SPE polymeric phase nature were jointly investigated (see Section 2.4). Moderately acid conditions have been previously reported for the analysis of PFASs in plasma samples by on-line SPE HPLC-ESI-MS/MS [42–45]. Addition of formic acid (0.1 %) had a significant positive impact on analyte signal for short-chain compounds (e.g., short-chain PFCAs such as PFPeA), possibly as a consequence of a better retention of the latter on the on-line SPE column (increase of the proportion of these analytes in their neutral form) (Fig.2). While acidic conditions (pH~3) had little influence on signal intensity for compounds such as C_7 – C_8 PFCAs, 6:2 FTSA or PFHxS, analyte signal dropped sharply for longer-chain PFASs such as PFOS or PFUnDA (three-fold and ten-fold decrease, respectively), and was completely lost for N-alkylated perfluorooctane sulfonamide acetic acids (e.g., MeFOSAA) (Fig.2). The signal decrease observed for long-chain PFCAs ($\text{pK}_a \sim 3\text{--}4$) may be ascribed to the increase of the proportion of the neutral form, analytes being prone to increased sorption on vial walls or tubings, while that of PFOS remains unexplained

($pK_a \ll 0$) [48,49]. Addition of formic acid to samples was therefore discarded, while the HLB sorbent was adopted for the fair signal intensity and variability it produced.

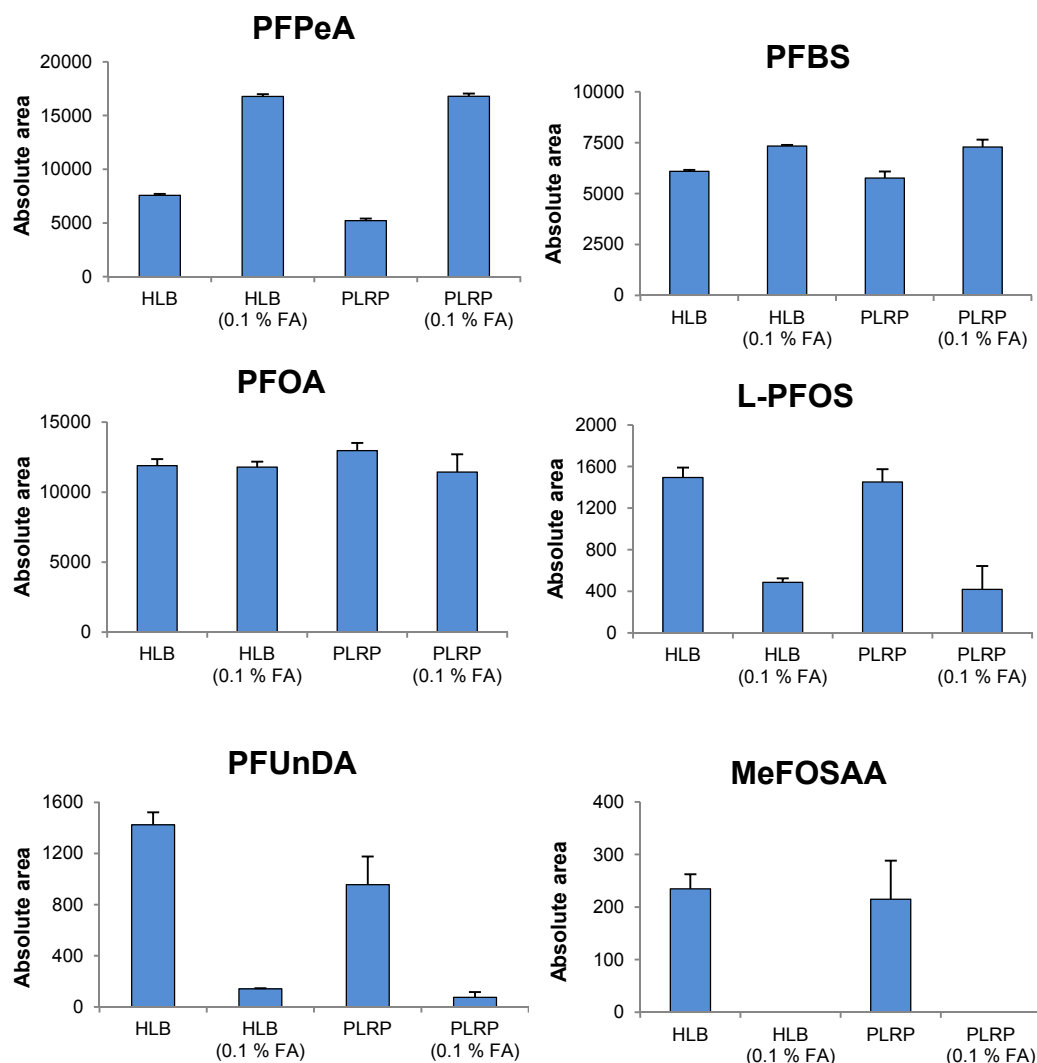


Fig.2. Effect of on-line SPE column nature and HCOOH (FA) addition on analyte absolute area. Error bars indicate standard deviation ($n = 3$).

It is also worth elaborating on the effect of residual organic solvent percentage in extracts on analyte signal, since non-negligible volumes of MeOH [43] or ACN [40,44,45] are commonly added to plasma samples to induce protein precipitation. Arguably, high organic solvent content in extracts may alter analyte interactions with the on-line SPE polymeric phase. In the present study, the influence of MeOH or ACN residual percentage on analyte absolute area was investigated jointly with on-line SPE loading volume (full factorial design). PFCAs displayed different optimal operating zones according to their perfluoroalkyl chain length. For instance, retention of PFHxA was hindered for ACN percentages > 5 %, while no particular trend was observed for medium-chain PFASs (e.g., PFNA, L-PFOS) for each loading volume considered (Fig.3). Note that similar trends were observed when using MeOH as the organic modifier (SI Fig.S2). In contrast, analyte signal concomitantly increased with organic solvent

percentage for the most hydrophobic PFCAs (reduction of sorption losses) (e.g., PFUnDA) (**Fig.3**). Since the latter could possibly be found in plasma samples owing to their higher bioaccumulative properties, conditions that would promote their detection were elected, namely 12.5 % organic solvent in HPLC-water (v/v). Note that at 12.5 % organic solvent, analyte signal generally increased in a linearly fashion up to 600 μL , after which analyte breakthrough may occur. Hence, loading volume was only investigated in the 200–600 μL range in the optimization of other on-line SPE parameters (see below).

The choice of the protein precipitation solvent was conducted in non-spiked seabird plasma samples. ACN-treated samples generally exhibited higher analyte signal than those treated with MeOH, especially for longer-chain PFASs (SI **Fig.S3**). In addition, IS signal was slightly superior when using ACN (SI **Fig.S4**). Taken together, these observations suggest that higher recovery rates and more efficient clean-up may be achieved with ACN, which led to its selection. Note that a small plasma sample size of 25 μL was selected, preliminary experiments having shown that higher sample amounts (i.e. 50 or 100 μL) may lead to significant signal suppression and less robustness (back-pressure increase) when using > 200 μL on-line SPE loading volumes (data not shown).

On-line SPE main parameters (loading speed and loading volume) were finally optimized through a 3^2 full factorial design on spiked chicken plasma (see Section 2.4). Analyte peak shape, intensity and variability were therefore examined for 9 different operating conditions. An illustration of the response surfaces generated from this experiment is provided in **Fig.4**. Higher peak areas were generally obtained when combining the lowest loading speed (200 $\mu\text{L min}^{-1}$) and the highest loading volume (600 μL), with the notable exception of PFPeA for which dramatic signal loss was observed at the lowest flow rates investigated (**Fig.4**). In order to keep a single analysis method for all target PFASs, the best compromise in terms of analyte response and variability was eventually selected at the center point of the design (600 $\mu\text{L min}^{-1}$ and 400 μL).

Using these conditions and a sample amount of 25 μL , no significant back-pressure increase was observed between consecutive injections of seabird plasma samples ($n = 21$) (SI **Fig.S8**). Another noteworthy advantage of combining a small sample amount and a relatively large on-line SPE loading volume is the reduced amount of ISs required (30 pg added at the beginning of the preparation procedure, ~ 100-fold lower than traditional off-line methods), since a large proportion of the extract (50 %) is injected.

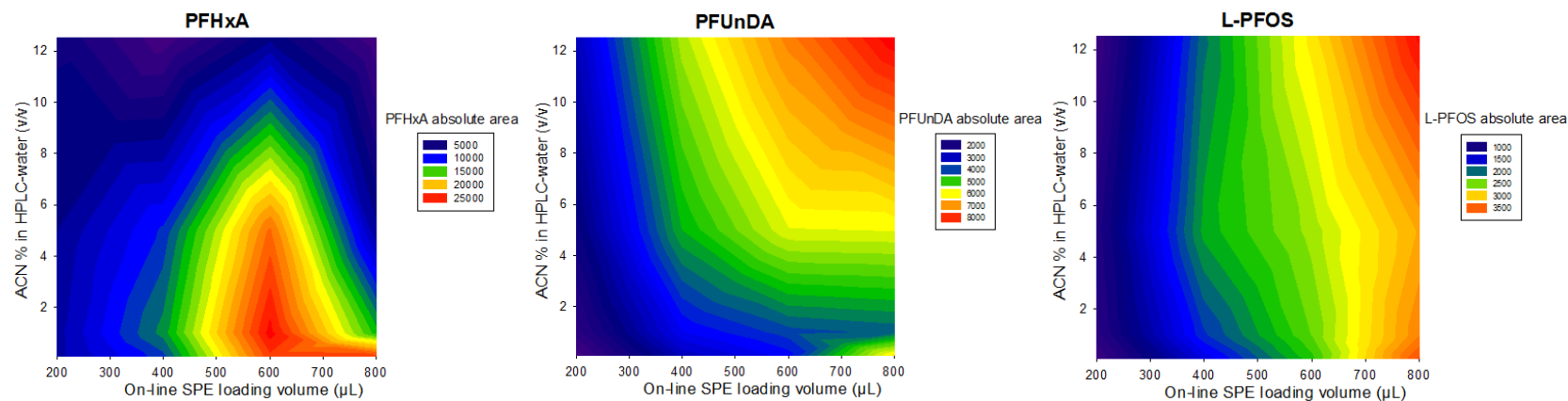


Fig.3. Simultaneous investigation of the influence of on-line SPE loading volume (μL) and organic solvent percentage (% MeOH in HPLC-Water v/v) on analyte absolute area, illustrated for PFHxA, PFUnDA and L-PFOS.

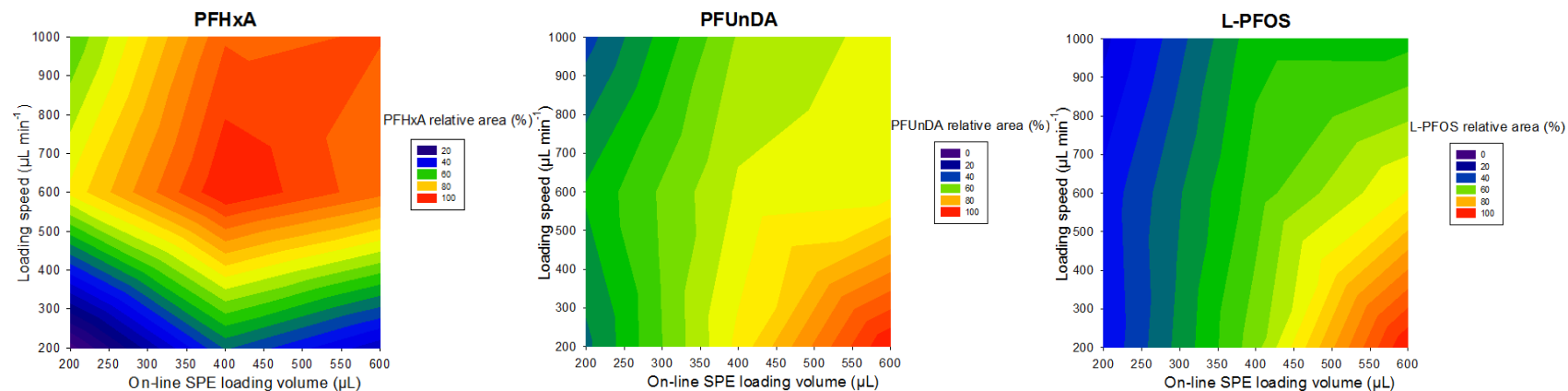


Fig.4. Response surfaces generated upon simultaneous variation of on-line SPE loading volume and loading speed (3^2 full factorial design: loading volume investigated at 200, 400 and 600 μL and loading speed at 200, 600 and 1000 $\mu\text{L min}^{-1}$), illustrated for PFHxA, PFUnDA and L-PFOS (relative area, %).

3.2. Instrumental detection limits, linearity, and matrix effects

Instrumental limits of detection (ILDs) are provided in **Table 2**. ILDs were as low as 0.5 fg on-column for FOSA and fell in the 5–30 fg or 10–100 fg on-column range for fluorotelomer sulfonates and PFSAAs, respectively, while those of short-chain PFCAs were substantially higher (200–3000 fg on column).

Ten-point calibration curves (1/x weighted regression) were built for both solvent-based and matrix-based approaches (range tested: 0.02–40 ng g⁻¹). In the solvent-based approach, the linearity range covered by the calibration curve was generally comprised between 0.1–40 ng g⁻¹ (plasma equivalent, calculated on the basis of a 25 mg sample amount), with excellent determination coefficients (R² range: 0.9924–0.9994) (**Table 2**). Note that quadratic models were used in the case of fluorotelomer sulfonates and diSAmPAP (1/x weighted regression) (R² > 0.993). Residuals remained generally between ± 20 % of the calculated trend lines, and the deviation observed at the highest calibration level was always < ± 6 % (**Table 2**), suggesting that the linear range may extend beyond 40 ng g⁻¹ for most analytes. In the matrix-based standard addition approach, the linear range spanned 2-3 orders of magnitude (0.1–40 or 0.25–40 ng g⁻¹ in most cases), with determination coefficients always ≥ 0.9934 (data not shown).

Electrospray ionization being notoriously vulnerable to signal alterations due to endogenous matrix constituents that may co-elute with target analytes, assessment of matrix effects is therefore essential to ensure the validity and reliability of the results [50,51]. The use of adequate mass-labelled ISs can, to some extent, compensate for signal exaltation or suppression and ensure accurate quantitation of target analytes [51,52]. In the present method, the solvent-based and chicken plasma matrix-based calibration curves exhibited similar coefficients (overlapping 95 % confidence intervals) (e.g., L-PFOS, SI **Fig.S5**), resulting in moderate matrix effects (- 23 % to + 11 %) for 23/26 target analytes (**Table 3**). A strong discrepancy was however observed in the specific case of PFDS (+ 118 %), 8:2 diPAP (- 158 %) and diSAmPAP (- 60 %), suggesting that ¹³C₄-PFOS (for PFDS) or ¹³C₄-6:2 diPAP (for 8:2 diPAP and diSAmPAP) failed to compensate for matrix effects. Since the aforementioned analytes were never actually detected in any of the seabird plasma samples, it was decided to keep the solvent-based calibration curve approach for quantitation purposes, which yielded satisfactory accuracy rates for most analytes (see also Section 3.3). Should PFDS, 8:2 diPAP or diSAmPAP these analytes be found in plasma samples, quantitation may be addressed by standard additions. Alternatively, it may be advantageous to acquire the matching mass-labelled standard of the target analyte, if available.

In addition, the “raw” matrix effect was estimated upon examination of the absolute area of ISs in solvent-based (i.e. procedural blanks) and several plasma samples. Most ISs were either little or not affected by the presence of a matrix (SI **Fig.S6**). ¹³C₄-PFOS absolute areas observed in the various matrices remained between - 5 and + 15 % of the value observed in the matrix-free solvent, while some ISs did not weather signal suppression (¹³C₈-FOSA) or exaltation (¹³C₂-PFHxA, ¹³C₂-PFDA, D₃-N-MeFOSAA) as efficiently.

Table 2. Instrumental limit of detection (ILD) and linearity performance of the solvent-based calibration curve. Unless stated otherwise, 1/x weighted linear regressions were used. Information on the deviation (%) between observed (y) and calculated-back (\hat{y}) response is also provided.

	ILD* (pg injected)	Linearity range (ng g ⁻¹ plasma)	R ²	Deviation range (%)	Deviation at lowest calibration level (%)	Deviation at highest calibration level (%)
PFPeA	0.7 (Q)	0.1 – 10	0.9933	-1.0/+13	+11	+0.85
PFHxA	3 (C)	0.1 – 40	0.9971	-25/+20	-25	-4.2
PFHpA	0.2 (Q)	0.1 – 40	0.9982	-29/+16	-29	-2.6
PFOA	0.2 (Q)	0.25 – 40	0.9979	-16/+14	-11	-1.1
PFNA	1 (C)	0.1 – 40	0.9975	-16/+11	+3.2	-1.9
PFDA	0.1 (Q)	0.1 – 40	0.9957	-13/+8.7	+0.79	-5.5
PFUnDA	0.1 (Q)	0.25 – 40	0.9952	-14/+17	-14	-5.2
PFDoDA	0.005 (C)	0.1 – 40	0.9984	-8.6/+17	+10	+0.34
PFTTrDA	0.1 (Q)	0.1 – 40	0.9956	-24/+21	-18	-3.5
PFTeDA	0.1 (Q)	0.1 – 40	0.9994	-22/+10	-22	-1.0
PFBS	0.1 (C)	0.1 – 40	0.9982	-29/+22	-29	-1.5
PFHxS	0.1 (C)	0.1 – 40	0.9980	-18/+5.5	-18	-4.1
PFHpS	0.01 (C)	0.02 – 40	0.9940	-29/+4.1	-29	+4.1
L-PFOS	0.02 (Q)	0.1 – 40	0.9992	-14/+10	-14	-1.2
PFDS	0.01 (C)	0.1 – 40	0.9924	-28/+18	+16	+2.9
MeFOSAA	0.01 (Q)	0.25 – 40	0.9947	-25/+18	+2.3	-3.0
EtFOSAA	0.05 (C)	0.1 – 40	0.9978	-22/+16	-2.5	-0.39
FOSA	0.0005 (Q)	0.02 – 40	0.9963	-25/+13	-25	+2.2
MeFOSA	0.1 (C)	0.02 – 40	0.9970	-9.9/+13	-9.9	+4.6
EtFOSA	0.2 (C)	0.02 – 40	0.9982	-12/+16	+0.26	+1.2
4:2 FTSA**	0.03 (C)	0.25 – 40***	0.9932	-12/+21	+21	-1.4
6:2 FTSA**	0.005 (C)	0.25 – 40***	0.9993	-12/+35	+35	-1.3
8:2 FTSA**	0.01 (C)	0.1 – 40***	0.9940	-14/+28	+28	-0.92
6:2 diPAP	0.1 (Q)	0.75 – 40	0.9980	-4.8/+11	-4.8	-1.5
8:2 diPAP	0.2 (Q)	0.75 – 40	0.9937	-22/+22	+22	+3.9
diSAmPAP**	0.2 (C)	0.75 – 40***	0.9978	-19/+27	-19	+1.3

*Instrumental limit of detection (ILD), expressed in pg injected, calculated as the minimal amount of analyte to give a S/N ratio of 3, and determined on the lowest possible level of the solvent-based calibration curve (12.5 % ACN in HPLC-water (v/v)). When two transitions were followed (quantitation: Q; confirmation: C), the transition with the lowest signal to noise ratio (SNR) was used to derive the ILD (SNR = 3). The transition used for this purpose is specified in brackets. **1/x weighted quadratic regression. ***Dynamic range.

Table 3. Method performance: limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ), sample preparation recovery rates, accuracy, precision, and matrix effect. Tests were conducted on chicken plasma samples spiked at two fortification levels (0.5 and 5 ng g⁻¹ plasma). When applicable, standard deviation is given in brackets. Intra-day and inter-day precision correspond to relative standard deviations (n = 5 and 11, respectively).

	LOD* ng g ⁻¹	LOQ** ng g ⁻¹	Recovery (%)	Recovery (%)	Accuracy (%)	Accuracy (%)	Intra-day precision (%)	Intra-day precision (%)	Inter-day precision (%)	Inter-day precision (%)	Matrix effect*** (%)
Spike level (ng g ⁻¹ plasma)			0.5	5	0.5	5	0.5	5	0.5	5	
Replicates			5	5	5	5	5	5	11	11	
PFPeA	0.09 ^a	0.27 ^d	46 (37)	64 (18)	123 (7)	121 (9)	6	7	32	27	-15
PFHxA	0.07 ^a	0.21 ^d	76 (5)	71 (7)	100 (5)	85 (10)	5	2	5	3	-7
PFHpA	0.1 ^a	0.3 ^d	87 (6)	70 (8)	85 (3)	73 (8)	13	12	38	31	-14
PFOA	0.05 ^a	0.25 ^e	95 (17)	73 (9)	118 (7)	102 (8)	9	4	10	4	-2
PFNA	0.02 ^b	0.1 ^e	79 (11)	78 (10)	119 (14)	116 (10)	10	20	22	35	+7
PFDA	0.03 ^a	0.1 ^e	67 (12)	67 (5)	97 (7)	94 (6)	3	6	8	7	-17
PFUnDA	0.05 ^a	0.25 ^e	90 (10)	69 (6)	101 (11)	97 (2)	5	5	8	8	-20
PFDoDA	0.02 ^a	0.1 ^e	75 (10)	75 (10)	94 (8)	102 (7)	7	8	8	8	-2
PFTrDA	0.02 ^a	0.1 ^e	62 (6)	71 (7)	126 (13)	123 (14)	10	11	22	18	-3
PFTeDA	0.003 ^b	0.1 ^e	66 (5)	69 (3)	93 (15)	103 (12)	13	8	11	9	+5
PFBS	0.004 ^b	0.1 ^e	78 (3)	68 (2)	79 (6)	84 (1)	3	4	24	25	+2
PFHxS	0.005 ^b	0.1 ^e	79 (10)	68 (1)	87 (3)	96 (3)	3	2	8	7	0
PFHpS	0.01 ^b	0.03 ^d	75 (7)	70 (8)	99 (10)	104 (11)	8	8	23	26	+11
L-PFOS	0.02 ^b	0.1 ^e	81 (7)	72 (6)	100 (6)	100 (7)	11	7	14	6	+3
PFDS	0.005 ^c	0.1 ^e	74 (10)	70 (8)	165 (25)	157 (17)	9	9	32	31	+118
MeFOSAA	0.003 ^c	0.25 ^e	99 (18)	77 (9)	89 (18)	97 (11)	8	5	8	10	-14
EtFOSAA	0.003 ^c	0.1 ^e	111 (28)	68 (10)	85 (9)	94 (9)	10	9	22	18	-13
FOSA	0.01 ^a	0.03 ^d	73 (7)	75 (5)	80 (5)	90 (7)	7	11	7	8	-7
MeFOSA	0.1 ^a	0.3 ^d	80 (5)	72 (5)	103 (10)	97 (14)	9	8	11	8	0
EtFOSA	0.04 ^a	0.12 ^d	78 (8)	68 (5)	107 (14)	95 (5)	7	9	13	8	-7
4:2 FTSA	0.008 ^c	0.25 ^e	81 (9)	67 (10)	104 (9)	128 (9)	4	10	17	31	-23
6:2 FTSA	0.01 ^c	0.25 ^e	77 (9)	71 (10)	106 (10)	106 (3)	6	6	8	11	+7
8:2 FTSA	0.03 ^c	0.1 ^e	72 (8)	76 (7)	92 (20)	82 (3)	3	26	44	44	-11
6:2 diPAP	0.1 ^a	0.75 ^e	90 (13)	75 (5)	84 (17)	76 (13)	10	6	10	5	+2
8:2 diPAP	0.02 ^c	0.75 ^e	110 (24)	82 (10)	39 (6)	26 (4)	16	15	24	17	-158
diSAmPAP	0.01 ^c	0.75 ^e	124 (13)	87 (6)	25 (3)	19 (3)	11	17	41	28	-60

*LOD: limit of detection, determined as follows: (a) when analytes were found in procedural blanks, the LOD was derived from the standard deviation of the blanks multiplied by the $t_{n-1,95}$ student coefficient, n being the number of blank replicates. Otherwise, the LOD was derived from the signal-to-noise ratio (SNR) observed in either low-contaminated seabird plasma samples (b) or in chicken plasma samples spiked at 0.5 ng g⁻¹ (c). When two transitions were followed (quantitation and confirmation), the transition with the lowest SNR was chosen to determine the LOD. **LOQ: limit of quantification, set as the more stringent of the two following approaches: (d) 3 x LOD or (e) the lowest point of the linearity range. ***Matrix effect (%), determined over the whole linearity range by comparing the slopes of the solvent-based and matrix-based calibration curves ($A_{\text{analyte}}/A_{\text{IS}} = f(m_{\text{analyte}}/m_{\text{IS}})$).

Table 4. Comparison of the present method optimized settings and limits of detection (LOD) with previously reported on-line SPE HPLC-MS/MS methods for the analysis of PFASs in plasma samples.

Investigated PFASs	Matrix type	Sample size (μL)	Injection volume (μL)	Loading speed ($\mu\text{L min}^{-1}$)	LOD	Ref.
3 (PFOA, PFOS, and FOSA)	<i>Human plasma</i>	300	30	1000	0.05–0.25*	Inoue et al. (2004) [41]
18 (8x PFCAs, 3x PFSAAs, 7x FOSA and derivatives)	<i>Human plasma</i>	100	400	1000	0.05–0.8*	Kuklennyik et al. (2005) [42]
19 (11x PFCAs, 5x PFSAAs, 5x FOSA and derivatives)	<i>Human plasma</i>	150	400	NA	0.002–0.05*	Haug et al. (2009) [43]
9 (5x PFCAs, 3x PFSAAs, and FOSA)	<i>Human plasma</i>	100	350	2000	0.009–0.075*	Gosetti et al. (2010) [44]
7 (4x PFCAs, 3x PFSAAs)	<i>Human plasma</i>	200	200	1000	0.03–0.1*	Moch et al. (2010) [40]
18 (13x PFCAs, 4x PFSAAs, and FOSA)	<i>Human plasma</i>	100	20	1500	0.031–0.76*	Llorca et al. (2012) [45]
26 (10x PFCAs, 5x PFSAAs, 5x FOSA and derivatives, 3x FTSAs, 2x diPAPs, diSAmPAP)	<i>Seabird plasma</i>	25	400	600	0.003–0.1**	Present study

*LOD expressed in ng mL^{-1} ; **LOD expressed in ng g^{-1}

3.3. Method performance

Table 3 displays the key figures of merit for the method performance. LODs were in the range 0.003–0.1 ng g⁻¹ plasma, which is lower than or in the same order of magnitude as previously reported methods (**Table 4**). Recovery, accuracy and precision were evaluated on chicken plasma fortified at 0.5 and 5 ng g⁻¹ (see also Section 2.5). Acceptable recovery rates were obtained for the method preparation procedure, in the range 46–95 % for PFCAs, 68–81 % for PFSAs, and 67–124 % for other analytes. Intra-day and inter-day precision were assessed on chicken plasma samples spiked with native PFASs at two levels and ranged between 2–26% and 3–44%, respectively. Method accuracy was evaluated likewise, and was generally comprised between $\pm 20\%$ of the target values, with the noteworthy exception of PFDS, 8:2 diPAP and diSAmPAP due to matrix effects not compensated for by ISs. In addition, a human serum standard reference material (NIST SRM 1957) was analyzed to evaluate method trueness; the concentrations found in both a freshly reconstituted sample and a subsample stored at -18°C for 6 months were in either reasonable or excellent agreement with the NIST reference values (**Table 5**). For most compounds, average Z-scores were better than 2 (in absolute terms), and even better than 1 for PFOS. For PFHpA and PFOA, |Z-scores| were occasionally > 3. For the former, this may be due to the fact that the sample concentration (NIST reference: 0.31 ng g⁻¹ plasma) was close to our reported LOQ (**Table 3**). For the latter, it may be a consequence of the relatively low standard deviation reported by NIST. It is however germane to note that PFOA and PFHpA determined concentrations were still adequate, in the range 70–85 % and 50–120 % of the NIST reference value, respectively (**Table 5**).

3.4. Intermediate precision and influence of storage time

Haug et al. [43] repeated the intra-day variation assay a few months after the method validation process had been completed to evaluate the intermediate precision of their on-line SPE HPLC-MS/MS method. In the present study, the intra-day precision experiment was repeated six months after the initial validation on spiked chicken plasma samples (0.5 and 5 ng g⁻¹) (n = 5). The intra-day variations obtained were in the range 4–22 and 2–17 % for the low and high spike levels, respectively (data not shown), in excellent agreement with the ones obtained in the initial series.

In addition, the freshly reconstituted human serum (NIST SRM 1957) used in our initial validation was stored at - 20°C for a duration of 6 months to investigate the stability of analytes upon time, since Antarctic seabird plasma samples were typically stored at - 20°C for several months between sampling and analysis. Little influence of storage time was detected, typical deviations after six months of storage oscillating between $\pm 25\%$ from the initial concentration (**Table 5**) with the exception of PFHpA. Overall, these observations suggest that after reconstitution of NIST SRM 1957 in HPLC-water and subsequent homogenization, the latter may be divided into small sample aliquots and stored at - 20°C for several months until being thawed anew and used for quality control purposes, without major analyte loss.

Table 5. Concentration (ng g⁻¹ plasma) in a human serum standard reference material (NIST SRM 1957) determined by the present method at T0 (freshly reconstituted matrix, n = 5) and after six months of storage at – 20°C (n = 5). When applicable, NIST reference values are also provided.

	Present study (T0)	Present study (T0 + 6 months)	NIST reference values
<i>Replicates</i>	5	5	NA
<i>Unit</i>	ng g ⁻¹ plasma	ng g ⁻¹ plasma	ng g ⁻¹ plasma
PFHpA	0.38 ± 0.05	0.15 ± 0.02	0.31 ± 0.05
PFOA	3.6 ± 0.1	4.2 ± 0.4	5.0 ± 0.4
PFNA	0.79 ± 0.1	0.90 ± 0.07	0.88 ± 0.07
PFDA	0.26 ± 0.02	0.20 ± 0.1	0.39 ± 0.12
PFUnDA	<LOQ	0.21 ± 0.02	0.17 ± 0.04
PFHxS	3.4 ± 0.3	2.9 ± 0.2	4.0 ± 0.8
PFHpS	0.37 ± 0.03	0.34 ± 0.06	NA*
PFOS	21.4 ± 0.6	20.4 ± 1.4	21.1 ± 1.3
MeFOSAA	0.56 ± 0.06	0.75 ± 0.2	NA*

*NA : not available

3.5. Occurrence of PFASs in Antarctic and Southern Ocean seabirds

The applicability of the newly-developed on-line SPE HPLC-MS/MS method was assessed through the analysis of adult king penguin, snow petrel and South polar skua plasma samples (n = 7 for each species). An illustration of the chromatograms obtained for PFOS in a procedural blank and a South polar skua plasma sample is provided in the SI (**Fig.S5**).

Average PFAS levels are presented in **Fig.5**, 11/26 target analytes being detected in the plasma of selected Antarctic and Subantarctic seabird species.

ΣPFASs ranged between 0.4 and 19.1 ng g⁻¹ plasma, PFOS being the dominant compound, at times reaching levels > 10 ng g⁻¹ plasma (for full details on concentrations, see **Table S5** of the SI). Although South polar skuas and snow petrels were collected at the same place (Adelie Land, Antarctica), ΣPFASs was 1.2–51 times higher for skuas, with notable levels of long-chained PFCAs such as PFUnDA or PFTrDA (in the range 0.84–4.0 and 0.45–1.9 ng g⁻¹ plasma, respectively). South polar skuas are long-distance migratory birds [53,54], breeding in Antarctica in the Austral summer and heading northward to winter in the tropical Indian Ocean or in the temperate North Atlantic and North Pacific waters. Thus, they are likely subject to enhanced PFAS exposure compared to snow petrels that remain within the Antarctic continental shelf (unpublished data). The discrepancy between the PFAS levels observed in the two species may also be attributed to differences in diet such as preying upon different trophic levels [55,56]. These preliminary results provide further evidence of the occurrence of PFASs in biota at global scale, including remote locations such as Subantarctic islands and Antarctica. They also suggest that foraging and migratory habits may play a decisive role in PFAS intake as regards Antarctic seabirds.

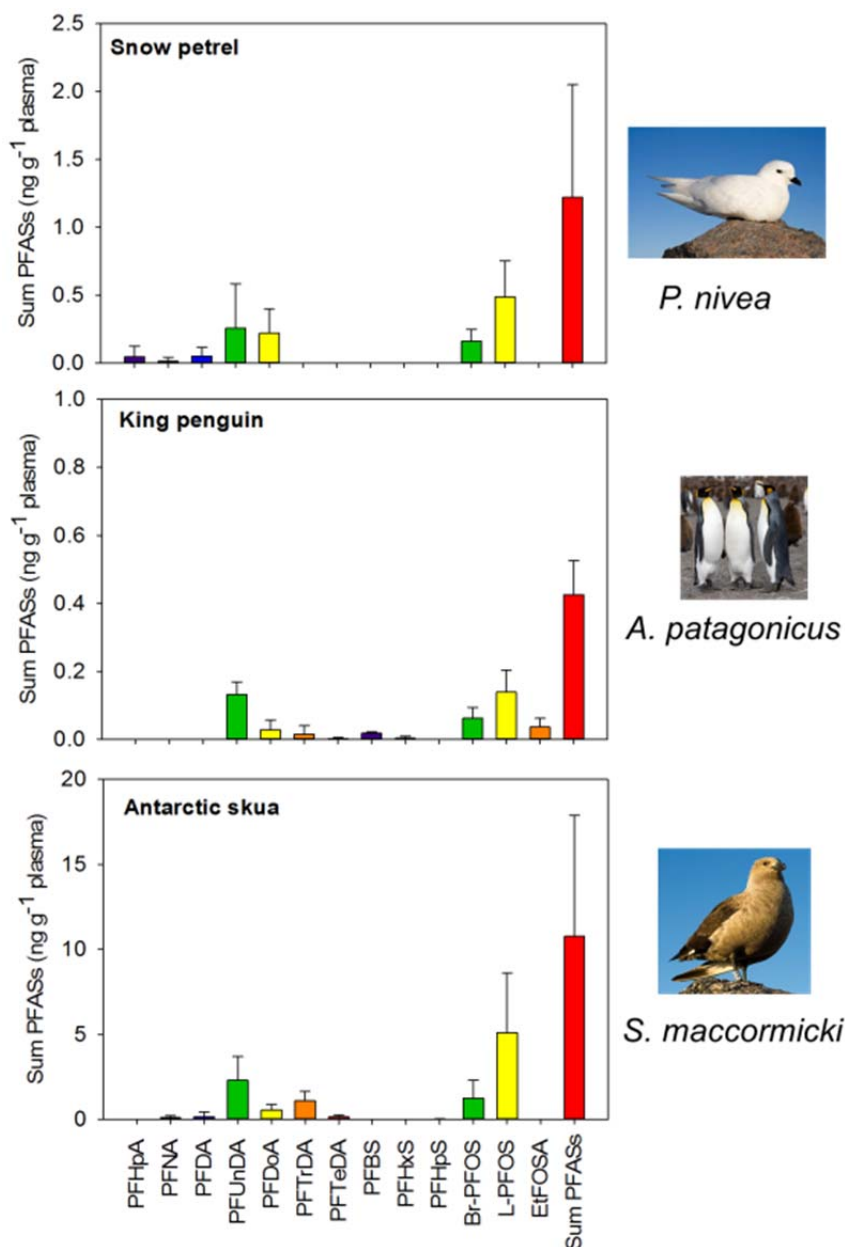


Fig.5. Average PFAS levels (ng g^{-1} plasma) observed in Antarctic and Subantarctic seabird species (chick-rearing adults for each species). Concentrations are all blank-corrected. Error bars indicate standard deviation ($n = 7$).

4. Conclusions

An automated on-line SPE HPLC–MS/MS method has been developed and validated for the determination of 26 legacy and emerging PFASs in seabird plasma. The addition of appropriate isotope-labelled ISs at the beginning of the preparation procedure efficiently compensated for potential recovery losses and matrix effects for most analytes, enabling quantitation through solvent-based calibration curves all the while ensuring good accuracy, trueness and precision for 23/26 analytes. Environmentally relevant limits of detection were reported ($0.003\text{--}0.1 \text{ ng g}^{-1}$), and out of the 26 target

analytes, 11 were reported in Antarctic seabird plasma samples (Σ PFASs range: 0.37–19 ng g⁻¹). The method is robust, allowing injection of a large number of samples in a single sequence without significant pressure increase or loss of sensitivity, making it eligible for routine analyses. The reduced amount of plasma sample material required (25 μ L) implies that this method could be used to determine PFAS plasma levels in much smaller bird species, as well as in smaller biological models (e.g. zebrafish *Danio rerio*, medaka *Oryzias latipes*) which are frequently the object of ecotoxicology studies.

Acknowledgments

This study was jointly funded by the French National Research Agency (PolarTOP project, grant ANR-10-CESA-0016 to O. Chastel), Institut Polaire Français (program 109 to H. Weimerskirch) and INSU-EC2CO Ecodyn 2014 program (to O. Chastel). The authors also acknowledge funding from the INTERREG ORQUE SUDOE project (SOE3/P2/F591). This study has been carried out with financial support from the French National Research Agency (ANR) in the frame of the “Investments for the future” Program, within the Cluster of Excellence COTE (ANR-10-LABX-45). IdEx Bordeaux (ANR-10-IDEX-03-02) provided the PhD grant allocated to G. Munoz. The Aquitaine Regional Council and the European Union (CPER A2E project) are acknowledged for their financial support. Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund (FEDER).

References

- [1] Krafft, M.P., Riess, J.G., **2015**. Selected physicochemical aspects of poly- and perfluoroalkylated substances relevant to performance, environment and sustainability – Part one. *Chemosphere* 129, 4–19.
- [2] Giesy, J. P., and Kannan, K., **2001**. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environ. Sci. Technol.* 35, 1339–1342.
- [3] Olsen, G.W.; Hansen, K.J.; Stevenson, L.A.; Burris, J.M.; Mandel, J.H., **2003**. Human donor liver and serum concentrations of perfluorooctane sulfonate and other perfluorochemicals. *Environ. Sci. Technol.* 37, 888–891.
- [4] Lau, C., Butenhoff, J.L., Rogers, J.M., **2004**. The developmental toxicity of perfluoroalkyl acids and their derivatives. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 198, 231–241.
- [5] Ahrens, L. **2011**. Polyfluoroalkyl Compounds in the Aquatic Environment: a Review of Their Occurrence and Fate. *J. Environ. Monit.* 13, 20–31.
- [6] Houde, M., De Silva, A.O., Muir, D.C.G., Letcher, R.J., **2011**. Monitoring of Perfluorinated Compounds in Aquatic Biota: An Updated Review. *Environ. Sci. Technol.* 45, 7962–7973.
- [7] Olsen, G.W., Burris, J.M., Ehresman, D.J., Froehlich, J.W., Seacat, A.M., Butenhoff, J.L., Zobel, L.R., **2007**. Half-Life of Serum Elimination of Perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and Perfluorooctanoate in Retired Fluorochemical Production Workers. *Environ. Health Perspect.* 115, 1298–1305.
- [8] Martin, J.W., Whittle, D.M., Muir, D.C.G., Mabury, S.A., **2004**. Perfluoroalkyl contaminants in a food web from Lake Ontario. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5379–5385.

- [9] Zhang, L., Liu, J., Hu, J., Liu, C., Guo, W., Wang, Q., Wang, H., **2012**. The inventory of sources, environmental releases and risk assessment for perfluorooctane sulfonate in China. *Environ. Pollut.* 165, 193–198.
- [10] Wang, Z., Cousins, I.T., Scheringer, M., Hungerbühler, K., **2013**. Fluorinated alternatives to long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids (PFCAs), perfluoroalkane sulfonic acids (PFASs) and their potential precursors. *Environ. Int.* 60 (2013), 242–248.
- [11] Scheringer, M., Trier, X., Cousins, I.T., De Voogt, P., Fletcher, T., Wang, Z., Webster, T.F., **2014**. Helsingør Statement on poly- and perfluorinated alkyl substances (PFASs). *Chemosphere* 114, 337–339.
- [12] Ahrens, L., Bundschuh, M., **2014**. Fate and effects of poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: a review. *Environ. Toxicol. Chem.* 33, 1921–1929.
- [13] Wang, Z., Cousins, I.T., Scheringer, M., Hungerbühler, K., **2015**. Hazard assessment of fluorinated alternatives to long-chain perfluoroalkyl acids (PFAAs) and their precursors: Status quo, ongoing challenges and possible solutions. *Environ. Int.* 75, 172–179.
- [14] Axel Möller, A., Ahrens, L., Sturm, R., Westerveld, J., van der Wielen, F., Ebinghaus, R., De Voogt, P., **2010**. Distribution and sources of polyfluoroalkyl substances (PFAS) in the River Rhine watershed. *Environ. Pollut.* 158, 3243–3250.
- [15] Labadie, P., Chevreuil, M., **2011**. Biogeochemical Dynamics of Perfluorinated Alkyl Acids and Sulfonates in the River Seine (Paris, France) under Contrasting Hydrological Conditions. *Environ. Pollut.* 159, 3634–3639.
- [16] Munoz, G., Giraudel, J.L., Botta, F., Lestremay, F., Dévier, M.H., Budzinski, H., Labadie, P., **2015**. Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: a French nationwide survey. *Sci. Tot. Environ.* 517, 48–56.
- [17] Yamashita, N., Taniyasu, S., Petrick, G., Wei, S., Gamo, T., Lam, P.K.S., **2008**. Perfluorinated acids as novel chemical tracers of global circulation of ocean waters. *Chemosphere* 70, 1247–1255.
- [18] Ahrens, L., Barber, J.L., Xie, Z., Ebinghaus, R., **2009**. Longitudinal and latitudinal distribution of perfluoroalkyl compounds in the surface water of the Atlantic Ocean. *Environ. Sci. Technol.* 43, 3122–3127.
- [19] Zhao, Z., Xie, Z., Möller, A., Sturm, R., Tang, J., Zhang, G., Ebinghaus, R., **2012**. Distribution and long-range transport of polyfluoroalkyl substances in the Arctic, Atlantic Ocean and Antarctic coast. *Environ. Pollut.* 170, 71–77.
- [20] González-Gaya, B., Dachs, J., Roscales, J.L., Caballero, G., Jiménez, B., **2014**. Perfluoroalkylated Substances in the Global Tropical and Subtropical Surface Oceans. *Environ. Sci. Technol.* 48, 13076–13084.
- [21] Butt, C.M., Berger, U., Bossi, R., Tomy, G.T., **2010**. Levels and trends of poly- and perfluorinated compounds in the arctic environment. *Sci. Total Environ.* 408, 2936–2965.
- [22] Ellis, D.A., Martin, J., De Silva, A.O., Mabury, S.A., Hurley, M.D., Sulbaek Andersen, M.P., Wallington, T.J., **2004**. Degradation of fluorotelomer alcohols: a likely atmospheric source of perfluorinated carboxylic acids. *Environ. Sci. Technol.* 38, 3316–3321.
- [23] Stock, N.L., Furdui, V.I., Muir, D.C.G., Mabury, S.A., **2007**. Perfluoroalkyl contaminants in the Canadian Arctic: evidence of atmospheric transport and local contamination. *Environ. Sci. Technol.* 41, 3529–3536.
- [24] Wild, S., McLagan, D., Schlabach, M., Bossi, R., Hawker, D., Cropp, R., King, C.K., Stark, J.S., Mondon, J., Nash, S.B., **2014**. An Antarctic Research Station as a Source of Brominated and Perfluorinated Persistent Organic Pollutants to the Local Environment. *Environ. Sci. Technol.* 49, 103–112.
- [25] Nash, S.B., Rintoul, S.R., Kawaguchi, S., Staniland, I., van den Hoff, J., Tierney, M., Bossi, R., **2010**. Perfluorinated compounds in the Antarctic region: Ocean circulation provides prolonged protection from distant sources. *Environ. Pollut.* 158, 2985–2991.

- [26] Martin, J.W., Smithwick, M.M., Braune, B.M., Hoekstra, P.F., Muir, D.C.G., Mabury, S.A., **2004**. Identification of long-chain perfluorinated acids in biota from the Canadian Arctic. *Environ. Sci. Technol.* 38, 373–380.
- [27] Haukas, M., Berger, U., Hop, H., Gulliksen, B., Gabrielsen, G.W., **2007**. Bioaccumulation of per- and polyfluorinated alkyl substances (PFAS) in selected species from the Barents Sea food web. *Environ. Pollut.* 148, 360–371.
- [28] Tao, L., Kannan, K., Kajiwar, N., Costa, M.M., Fillmann, G., Takahashi, S., Tanabe, S., **2006**. Perfluorooctanesulfonate and Related Fluorochemicals in Albatrosses, Elephant Seals, Penguins, and Polar Skuas from the Southern Ocean. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7642–7648.
- [29] Schiavone, A., Corsolini, S., Kannan, K., Tao, L., Trivelpiece, W., Torres Jr., D., Focardi, S., **2009**. Perfluorinated contaminants in fur seal pups and penguin eggs from South Shetland, Antarctica. *Sci. Total Environ.* 407, 3899–3904.
- [30] Llorca, M., Farré, M., Tavano, M.S., Alonso, B., Korembli, G., Barceló, D., **2012**. Fate of a broad spectrum of perfluorinated compounds in soils and biota from Tierra del Fuego and Antarctica. *Environ. Pollut.* 163, 158–166.
- [31] Nøst, T.H., Helgason, L.B., Harju, M., Heimstad, E.S., Gabrielsen, G.W., Jenssen, B.M., **2012**. Halogenated organic contaminants and their correlations with circulating thyroid hormones in developing Arctic seabirds. *Sci. Total Environ.* 414, 248–256.
- [32] Tartu, S., Gabrielsen, G.W., Blévin, P., Ellis, H., Bustnes, J.O., Herzke, D., Chastel, O., **2014**. Endocrine and Fitness Correlates of Long-Chain Perfluorinated Carboxylates Exposure in Arctic Breeding Black-Legged Kittiwakes. *Environ. Sci. Technol.* 48, 13504–13510.
- [33] Kannan, K., Corsolini, S., Falandysz, J., Fillmann, G., Kumar, K.S., Loganathan, B.G., Mohd, M.A., Olivero, J., van Wouwe, N., Yang, J.H., Aldous, K.M., **2004**. Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in human blood from several countries. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4489–4495.
- [34] Hansen, K.J., Clemen, L.A., Ellefson, M.E., Johnson, H.O., **2001**. Compound-Specific, Quantitative Characterization of Organic Fluorochemicals in Biological Matrices. *Environ. Sci. Technol.* 35, 766–770.
- [35] Verreault, J., Houde, M., Gabrielsen, G.W., Berger, U., Haukas, M., Letcher, R.J., Muir, D.C.G., **2005**. Perfluorinated Alkyl Substances in Plasma, Liver, Brain, and Eggs of Glaucous Gulls (*Larus hyperboreus*) from the Norwegian Arctic. *Environ. Sci. Technol.* 39, 7439–7445.
- [36] Corsolini, S., Guerranti, C., Perra, G., Focardi, S., **2008**. Polybrominated Diphenyl Ethers, Perfluorinated Compounds and Chlorinated Pesticides in Swordfish (*Xiphias gladius*) from the Mediterranean Sea. *Environ. Sci. Technol.* 42, 4344–4349.
- [37] Guo, F., Zhong, Y., Wang, Y., Li, J., Zhang, J., Liu, J., Zhao, Y., Wu, Y., **2011**. Perfluorinated compounds in human blood around Bohai Sea, China. *Chemosphere* 85, 156–162.
- [38] Fu, Y., Wang, T., Wang, P., Fu, Q., Lu, Y., **2014**. Effects of age, gender and region on serum concentrations of perfluorinated compounds in general population of Henan, China. *Chemosphere* 110, 104–110.
- [39] Cho, C.R., Lam, N.H., Cho, B.M., Kannan, K., Cho, H.S., **2015**. Concentration and correlations of perfluoroalkyl substances in whole blood among subjects from three different geographical areas in Korea. *Sci. Total Environ.* 512–513, 397–405.
- [40] Mosch, C., Kiranoglu, M., Fromme, H., Völkel, W., **2010**. Simultaneous quantitation of perfluoroalkyl acids in human serum and breast milk using on-line sample preparation by HPLC column switching coupled to ESI-MS/MS. *J. Chromatogr. B*, 878, 2652–2658.
- [41] Inoue, K., Okada, F., Ito, R., Kawaguchi, M., Okanouchi, N., Nakazawa, H., **2004**. Determination of perfluorooctane sulfonate, perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonylamide in human plasma by column-switching liquid chromatography-electrospray mass spectrometry coupled with solid-phase extraction. *J. Chromatogr. B* 810, 49–56.

- [42] Kuklenyik, Z., Needham, L.L., Calafat, A.M., **2005**. Measurement of 18 Perfluorinated Organic Acids and Amides in Human Serum Using On-Line Solid-Phase Extraction. *Anal. Chem.* 77, 6085–6091.
- [43] Haug, L.S., Thomsen, C., Becher, G., **2009**. A sensitive method for determination of a broad range of perfluorinated compounds in serum suitable for large-scale human biomonitoring. *J. Chromatogr. A* 1216, 385–393.
- [44] Gosetti, F., Chiuminatto, Zampieri, D., Mazzucco, E., Robotti, E., Calabrese, G., Gennaro, M.C., Marengo, E., **2010**. Determination of perfluorochemicals in biological, environmental and food samples by an automated on-line solid phase extraction ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method. *J. Chromatogr. A*, 1217, 7864–7872.
- [45] Llorca, M., Pérez, F., Farré, M., Agramunt, S., Kogevinas, M., Barceló, D., **2012**. Analysis of perfluoroalkyl substances in cord blood by turbulent flow chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Sci. Total Environ.* 433, 151–160.
- [46] Joiner, B.L., **1981**. Lurking Variables: Some Examples. *Am. Stat.* 35, 227–233.
- [47] Muir, D., Sverko, E., **2006**. Analytical methods for PCBs and organochlorine pesticides in environmental monitoring and surveillance: a critical appraisal. *Anal. Bioanal. Chem.* 386, 769–789.
- [48] Rayne, S., Forest, K., & Friesen, K.J., **2009**. Computational approaches may underestimate pKa values of longer-chain perfluorinated carboxylic acids: Implications for assessing environmental and biological effects. *J. Environ. Sci. Health Part A* 44, 317–326.
- [49] Rayne, S., Forest, K., Friesen, K., **2009**. Extending the semi-empirical PM6 method for carbon oxyacid pKa prediction to sulfonic acids: Application towards congener-specific estimates for the environmentally and toxicologically relevant C1 through C8 perfluoroalkyl derivatives. *Nat. Prec.*
- [50] Taylor, P.J., **2005**. Review. Matrix effects: The Achilles heel of quantitative high-performance liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry. *Clin. Biochem.* 38, 328–334.
- [51] Vestergren, R., Ullah, S., Cousins, I.T., Berger, U., **2012**. A matrix effect-free method for reliable quantification of perfluoroalkyl carboxylic acids and perfluoroalkane sulfonic acids at low parts per trillion levels in dietary samples. *J. Chromatogr. A* 1237, 64–71.
- [52] Labadie, P., Hill, E.M., **2007**. Analysis of estrogens in river sediments by liquid chromatography–electrospray ionisation mass spectrometry. Comparison of tandem mass spectrometry and time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1141, 174–181.
- [53] Kop, M., Peter, H.U., Mustafa, O., Lisovski, S., Ritz, M.S., Phillips, R.A., Hahn, S., **2011**. South polar skuas from single breeding population overwinter in different oceans though show similar migration patterns. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 435, 263–267.
- [54] Weimerskirch, H., Tarrow, A., Chastel, O., Delord, K., Cherel, Y., Descamps, S. In press. Population-specific wintering distributions of adult south polar skuas over the three oceans. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*
- [55] Eklund, C.R., **1961**. Distribution and life history studies of the south-polar skua. *Bird-Banding* 32, 187–223.
- [56] Ridoux, V., Offredo, C., **1989**. The diets of five summer breeding seabirds in Adélie Land, Antarctica. *Polar Biology* 9, 137–145.

III.3. Analyse des PFAS dans les matrices aqueuses par désorption thermique à diode laser (LDTD) couplée à la spectrométrie de masse haute résolution

Résumé

Une méthode est proposée pour l'analyse quantitative de 15 composés poly- et perfluoroalkylés (PFAS) dans les matrices aqueuses. Le temps d'analyse instrumentale est réduit à une dizaine de secondes grâce à l'introduction de l'échantillon par désorption thermique par diode laser couplée à une source d'ionisation chimique à pression atmosphérique (LDTD/APCI), avant détection par un spectromètre de masse haute résolution (Q-Exactive Orbitrap). L'optimisation des paramètres LDTD a été menée en examinant successivement chacun des facteurs séparément ou sur plusieurs facteurs à la fois (plans d'expérience) et les paramètres de l'analyseur ont été optimisés simultanément à l'aide d'un plan factoriel fractionnaire de Box Behnken. Au vu de la complexité de la matrice aqueuse considérée (eau usée brute non traitée), la préparation de l'échantillon a fait l'objet d'une optimisation spécifique. Des limites de détection de l'ordre de 0,3–4 ng L⁻¹ dans l'effluent de station d'épuration (STEP) et 0,03–0,2 ng L⁻¹ dans l'eau de surface ont été obtenues. Sur les 15 analytes ciblés, 11 ont montré d'excellents critères de validation, évalués sur une matrice d'effluent de STEP fortifiée. L'application de cette méthode à des échantillons d'effluents de STEP collectés dans sept villes du Canada, ainsi qu'à des eaux de surface et du robinet de la région de Montréal, offre l'opportunité d'évaluer le degré de contamination de cette région par les PFAS.

Quantitative analysis of poly- and perfluoroalkyl compounds in water matrices using high resolution mass spectrometry: Optimization for a laser diode thermal desorption method

Gabriel Munoz^{a,b}, Sung Vo Duy^b, H       Budzinski^c, Pierre Labadie^c, Jinxia Liu^d and S       Sauv  ^{b,*}

^a: Université de Bordeaux, EPOC, UMR 5805, LPTC, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France.

^b: Department of Chemistry, Université de Montréal, C.P. 6128, Succursale Centre-Ville, Montréal, QC, Canada, H3C 3J7.

^c: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France.

^d: McGill University, Department of Civil Engineering, 817 Sherbrooke Street West, Montreal, Quebec H3A 0C3.

*Corresponding author. Contact: sebastien.sauve@umontreal.ca

Article published in

Analytica Chimica Acta

Abstract

An alternative analysis technique for the quantification of 15 poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) in water matrices is reported. Analysis time between each sample was reduced to less than 20s, all target molecules being analyzed in a single run with the use of Laser Diode Thermal Desorption Atmospheric Pressure Chemical Ionization (LDTD/APCI) coupled with high resolution accurate mass (HRMS) Orbitrap mass spectrometry. LDTD optimal settings were investigated using either one-factor-at-a-time or experimental design methodologies, while orbitrap parameters were optimized simultaneously by means of a Box Behnken design. Following selection of an adequate sample concentration and clean-up procedure based on solid-phase extraction and graphite clean-up, the method was validated in an influent wastewater matrix. Environmentally significant limits of detection were reported (0.3 to 4 ng L⁻¹ in wastewater and 0.03–0.2 ng L⁻¹ in surface water) and out of the 15 target analytes, 11 showed excellent accuracies ($\pm 20\%$ of the target values) and recovery rates (75–125 %). The method was successfully applied to a selection of environmental samples, including wastewater samples in 7 locations across Canada, as well as surface and tap water samples from the Montreal region, providing insights into the degree of PFAS contamination in this area.

Keywords

perfluorinated – wastewater – laser diode thermal desorption – high resolution accurate mass – Orbitrap – experimental design

1. Introduction

Contaminants of emerging concern (CECs) are contaminants whose ecodynamics or ecotoxicology have been investigated only recently, whether for their suspected deleterious effects or bioaccumulation potential [1]. CECs encompass a wide array of molecules, among which pharmaceutical and personal care products, UV filters, brominated flame retardants, and poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs). PFASs are commonly composed of two moieties, a fluorinated carbonaceous tail (both lipophobic and hydrophobic) and a polar head (hydrophilic), and display excellent tensioactive properties. They are thus strategic chemicals for electroplating, leather treatment, aqueous film-forming foams (AFFFs), lubricants and coatings, and fluoropolymer chemistry [2–4]. However, PFASs are extremely persistent in the environment and have been shown to be bioaccumulative [5]. Perfluorooctane sulfonate (PFOS), one of the most extensively studied PFASs, has proven to be ubiquitous in all environmental media, while harmful effects such as hepatotoxicity, developmental toxicity, and hormonal disruptions were observed [6]. This in turn provided an impetus to ensure environmental sustainability, PFOS usage becoming increasingly restricted, and the *Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants* [7] being amended to include PFOS and perfluorooctane sulfonyl fluoride.

Typical concentrations of PFASs may reach several hundred ng L⁻¹ in surface waters downstream of fluorochemical facilities [8] and several hundred µg L⁻¹ in wastewater treatment plant (WWTP) effluents [9]. In contrast, in ecosystems with little anthropogenic impacts, PFAS levels in surface waters are usually reported in the pg L⁻¹ to ng L⁻¹ range (dissolved phase), while suspended particulate matter (SPM) and bed sediment levels typically fall in the low ng g⁻¹ range [10, 11]. Extensive sample clean-up and pre-concentration, as well as sensitive detection methods, are therefore needed. In the dissolved phase, extraction and cleanup generally include a solid-phase extraction (SPE) step with a weak anion exchange cartridge [12]. Extraction of solid matrices is usually carried out by sonication or pressurized-liquid extraction [13, 14], often followed by a purification step via SPE or graphite clean-up [15, 16]. Detection is typically performed with liquid chromatography (LC) coupled with tandem mass spectrometry (MS/MS) in negative electrospray mode [17], although some authors did utilize gas chromatography with prior ester derivatization [18].

In this paper, we report the use of Laser Diode Thermal Desorption (LDTD), an original desorption source for PFAS analysis. One of the most immediate benefits of this interface resides in its ultra-fast analysis, since no chromatographic separation is needed. Analytical runs are thus reduced by about twenty to fifty-fold compared with conventional LC-MS/MS methods. LDTD has been used in a number of analytical applications, for instance, in the determination of pharmaceutical residues in wastewater [19], dairy milk [20] and human plasma [21], steroid hormones [22] and pesticides [23] in wastewater, and cyanobacterial toxins in surface water [24]. However, since LDTD acquisition runs are about 9-second long, this usually does not allow for more than 6–8 transitions to be properly acquired at once when interfaced to a triple quadrupole (QqQ) mass spectrometer, due to dwell time limitations [23]. Hence the use of high resolution accurate mass (HRMS) Orbitrap mass spectrometry in this work. When the LDTD/APCI source was interfaced to an Orbitrap mass spectrometer operated in full scan

mode, 19 native PFASs and 9 internal standards were successfully analyzed in a single run, a significant advance in LDTD high-throughput analysis. Moreover, since no chromatographic separation is possible with LDTD, the risk of detecting false positives when interfaced to a QqQ may be heightened in comparison with conventional LC-based methods; this disadvantage was largely offset by the use of HRMS. In addition, analytes are filtered by a quadrupole prior to orbitrap detection, the mass scan range selected for this study of 210–915 m/z allowing reduction in noise levels. The Orbitrap analyzer has been demonstrating its potential since its introduction for its high resolution, mass accuracy, and sensitivity [25, 26], not to mention applications in multifarious areas of research including environmental analysis, peptide identification, or metabolomics [27–29]. Although HRMS is traditionally applied for qualitative or semi-quantitative purposes, Henri et al. [30] have further suggested that HRMS might emerge as a serious alternative to QqQ mass spectrometry in the field of routine analysis, despite the relatively affordable cost of the latter. Several recently published papers have indeed reported the use of Orbitrap technology for quantitative multi-residue methods [31, 32].

To date, no previous work has reported the use of LDTD/APCI-Orbitrap-MS for PFAS quantitation. Analytical conditions had therefore to be optimized to achieve sufficiently low limits of detection (LOD), since environmental standards could grow more stringent in the years to come. LDTD optimal settings for PFAS were investigated using either one-factor-at-a-time (OFAT) or experimental design (DOE) methodologies, while Orbitrap parameters were optimized simultaneously. The method was then validated and successfully applied to a selection of environmental samples including wastewater, surface water and tap water.

2. Experimental

2.1. Chemicals and Materials

Solutions of native and mass-labelled PFASs were purchased from Wellington Labs (Ontario, Canada). Solutions of native PFASs had chemical purities greater than 98% for individual compounds. PFAC-MXB contained a mixture of 17 PFASs: perfluoro-n-butanoic acid (PFBA), perfluoro-n-pentanoic acid (PFPeA), perfluoro-n-hexanoic acid (PFHxA), perfluoro-n-heptanoic acid (PFHpA), perfluoro-n-octanoic acid (PFOA), perfluoro-n-nonanoic acid (PFNA), perfluoro-n-decanoic acid (PFDA), perfluoro-n-undecanoic acid (PFUnA), perfluoro-n-dodecanoic acid (PFDoA), perfluoro-n-tridecanoic acid (PFTrDA), perfluoro-n-tetradecanoic acid (PFTeDA), perfluoro-n-hexadecanoic acid (PFHxDA), perfluoro-n-octadecanoic acid (PFODA), potassium perfluoro-1-butane sulfonate (PFBS), sodium perfluoro-1-hexane sulfonate (PFHxS), sodium perfluoro-1-octane sulfonate (PFOS), and sodium perfluoro-1-decane sulfonate (PFDS). The various PFAS compounds were all at 2 µg mL⁻¹ in MeOH, except for sulfonates (2 µg mL⁻¹ being the concentration as the salt). Perfluoro-1-octanesulfonamide (FOSA) and sodium 1H,1H,2H,2H-perfluorooctane sulfonate (6:2 FTS) were purchased separately and were at 50 and 47.4 µg mL⁻¹ in MeOH, respectively. Mass-labeled PFASs had chemical purities greater than 98% and isotopic purities greater than 99% per ¹³C or greater than 94% per ¹⁸O. MPFAC-

MXB contained 9 mass-labeled PFASs at $2\ \mu\text{g mL}^{-1}$ in MeOH (for sulfonates, $2\ \mu\text{g mL}^{-1}$ as the salt). Details on analyte name, chemical formula and corresponding internal standards are given in the Supporting Information (SI) (**Table S-1**). HPLC water, methanol (MeOH), acetonitrile (ACN), and ethyl acetate (EtOAc) were all HPLC-grade and obtained from Fisher Scientific (Whitby, ON, Canada), as well as ammonium hydroxide (NH_4OH , purity 28–30% in water). Strata X-AW cartridges (200 mg/6 mL) were supplied by Phenomenex (Torrance, CA, USA), while Supelclean ENVI-Carb cartridges (0.25 g/6 mL) were obtained from Supelco (Bellefonte, PA, USA) and coconut charcoal cartridges (EPA method 521, charcoal for NDMA, 2 g/6 mL) from Resprep (Bellefonte, PA, USA). Glass Fiber (47 mm, $0.3\ \mu\text{m}$), polycarbonate (25 mm, $0.2\ \mu\text{m}$) and cellulose acetate (47 mm, $0.2\ \mu\text{m}$) membrane filters were from Sterlitech (WA, USA). The T-960-LDTD APCI interface and LazSoft 4.0 software were both from Phytronix Technologies (Quebec, QC, Canada). The Q-Exactive Orbitrap mass spectrometer and Pierce negative ion calibration solution were from Thermo Fischer Scientific (Waltham, MA).

2.2. Sample Collection

Surface and raw wastewater samples were collected in high density polyethylene bottles carefully cleaned with HPLC water and MeOH. Wastewater samples were collected in November 2013 at a wastewater treatment plant (WWTP) near Montreal (Québec, Canada). This influent (sampled after preliminary grit removal) was used for in-matrix validation. Other WWTP influents ($n=6$) were collected in various provinces across Canada, including Ontario, Quebec, New Brunswick, and British Columbia. Tap water samples ($n=2$) were collected from domestic homes in Laval and Montreal, while surface water samples ($n=7$) were collected in December 2013 at seven selected sampling locations in the Montreal area (SI **Fig.S-1**).

2.3. Extraction Procedures

Samples of 250 mL of wastewater were successively passed through $2.6\ \mu\text{m}$ and $0.3\ \mu\text{m}$ glass-fiber (GF/F) membrane filters using a Nalgene filtration unit. Extraction of the suspended particulate matter (SPM) was conducted according to a sediment extraction procedure adapted from Bertin et al. [33]. Briefly, filters were sonicated twice with 5 mL of MeOH (20 min). Extracts were cleaned-up with graphite (0.25 g), and evaporated to dryness under a N_2 flow and moderate heating (40°C). After reconstitution in 250 μL of a $20\ \text{ng mL}^{-1}$ internal standard solution in EtOAc, extracts were sonicated, vortexed and a 200 μL aliquot was transferred to a 1.5 mL glass vial. The extraction of the wastewater filtrate was conducted as follows: Strata X-AW cartridges were conditioned with 8 mL of MeOH/ NH_4OH 0.2% in water (v/v) and 2 x 4 mL of HPLC water. After sample loading, cartridges were rinsed with 5 mL of HPLC water, dried for 1 hour under vacuum, and centrifuged (3 min, 5000 rpm). Analytes were recovered with 2 x 4 mL of MeOH/ NH_4OH 0.2% in water (v/v), the eluates being directly passed through graphite cartridges (coconut charcoal, 2 g) previously conditioned with 10 mL of MeOH. Extracts were finally evaporated to dryness and reconstituted in 250 μL of a $20\ \text{ng mL}^{-1}$ internal standard solution in EtOAc. Note that in the case of surface and tap water samples, a greater loading volume (1 L) was used and no graphite purification step was performed.

2.4. Instrumentation

A 7- μ L aliquot of sample was loaded into the LazWell 96-well polypropylene plate before evaporation to dryness in an oven at 40°C (3 min). Sample desorption was achieved with a focalized IR laser (980 nm, 20 W, continuous) that impacted the back of the well, thus indirectly vaporizing analytes by thermal transfer [22, 34]. Desorbed analytes were carried through a quartz transfer tube by the carrier gas (medical grade purified air), and then entered the corona discharge region to be ionized before transmission into the MS inlet. The LDTD/APCI source (negative ionization mode) was connected to a Q-Exactive Orbitrap mass spectrometer operated in full scan mode, with mass accuracies falling in the range 2.4–4.4 ppm for the 19 selected PFASs. The mass scan range was set at 210–915 m/z , allowing simultaneous acquisition of the 19 native compounds and their corresponding internal standards. A LDTD/APCI-Orbitrap-MS analytical run of the 19 target PFASs is exemplified in the supplementary material (SI Fig. S-2). Calculated exact mass and average measured mass of native and mass-labelled compounds are given in the SI (Table S-2 and S-3).

2.5. Method Optimization

The methodology to optimize LDTD and MS parameters is summarized in the general optimization scheme (SI Fig.S-3). Unless stated otherwise, 10 replicates were run for each condition tested, and native compounds were at 20 ng mL^{-1} in matrix-free solvent. For LDTD optimization, mass spectrometry (MS) parameters were fixed beforehand, the automatic gain control (AGC) being set at 10^6 , Resolution at 70 000 and injection time (IT) at 50 ms. Deposition solvent was the first critical parameter optimized, the 4 solvents tested being ACN, EtOAc, MeOH and HPLC-grade water. For these tests, laser power was set at 65% and carrier gas flow at 2 $L\ min^{-1}$, conditions deemed optimal in a preliminary OFAT study on 5 PFASs in spiked wastewater.

EtOAc having been chosen as the most adequate deposition solvent, laser power and carrier gas flow were then optimized. Preliminary 2 factor-2 level tests showed significant interaction between laser power and gas flow (data not shown). The latter were therefore optimized simultaneously, using a two-factor, three-level full factorial design. For this test, laser pattern n°1 was applied (see SI Fig.S-9 for details on laser patterns). A total of 9 combinations were investigated, the levels chosen for laser power being 30, 50 or 70 %, while carrier gas flow was set at 2, 4 or 6 $L\ min^{-1}$ (Table 1a), which was deemed wide enough to adequately cover the experimental domain. For each compound, the response was normalized to the maximum value observed (in %), prior to quadratic response surface fitting. Following choice of adequate laser power and carrier gas flow conditions (70% and 2 $L\ min^{-1}$, respectively), four laser patterns were investigated (SI Fig.S-9).

Orbitrap parameters were then optimized. AGC and IT have been previously reported to interact [34]. To reduce the number of analyses to a manageable number, a Box Behnken design was carried out (Table 1b), wherein AGC, IT and Resolution were optimized simultaneously at three levels for a total of 15 methods, including three center points. A 16th method was run with the same MS parameters as

the one used for the previous LDTD optimization (Resolution = 70 000, AGC = 10^6 , and IT = 50 ms), but it was not included in the response surface modeling.

Table 1. Experimental designs. 1a) Full-factorial design matrix for the simultaneous optimization of LDTD instrumental parameters; 1b) Box-Behnken design matrix with 3 center points for the optimization of mass spectrometry parameters.

1a				
Method name	Run order	Replicates	Laser power (%)	Carrier gas flow (L min ⁻¹)
FF1	1	10	30	2
FF2	4	10	30	4
FF3	6	10	30	6
FF4	5	10	50	2
FF5	2	10	50	4
FF6	8	10	50	6
FF7	7	10	70	2
FF8	3	10	70	4
FF9	9	10	70	6

1b					
Method name	Run order	Replicates	Resolution	AGC	Injection Time (ms)
BB1	2	5	35,000	$5 \cdot 10^4$	100
BB2	14	5	140,000	$5 \cdot 10^4$	100
BB3	9	5	35,000	$5 \cdot 10^6$	100
BB4	13	5	140,000	$5 \cdot 10^6$	100
BB5	10	5	35,000	$5 \cdot 10^5$	20
BB6	6	5	140,000	$5 \cdot 10^5$	20
BB7	7	5	35,000	$5 \cdot 10^5$	180
BB8	12	5	140,000	$5 \cdot 10^5$	180
BB9	1	5	70,000	$5 \cdot 10^4$	20
BB10	11	5	70,000	$5 \cdot 10^6$	20
BB11	3	5	70,000	$5 \cdot 10^4$	180
BB12	5	5	70,000	$5 \cdot 10^6$	180
BB13	4	5	70,000	$5 \cdot 10^5$	100
BB14	8	5	70,000	$5 \cdot 10^5$	100
BB15	15	5	70,000	$5 \cdot 10^5$	100
BB16*	16	5	70,000	$1 \cdot 10^6$	50

2.6. Method Validation

Method validation was conducted on a filtered fresh influent wastewater matrix, extracted as described in 2.3 and spiked post-extraction. Four- to eight-point standard addition calibration curves were built, final concentration varying between 0.5–200 ng mL⁻¹, while IS concentration was fixed at 20 ng mL⁻¹. Each point was analyzed 5 times, and regressions were performed on analyte to internal standard area ratio as a function of concentration ratio, except in the case of FOSA where only the absolute peak area was used, due to the lack of appropriate internal standard. In-matrix method performance results were only reported for 15 molecules out of the 19 PFASs originally targeted, the most hydrophobic carboxylates (PFTrDA, PFTeDA, PFHxDA and PFODA) being excluded due to extraction recoveries under 25% that were deemed unsuitable for routine analyses.

Since noise levels are irrelevant for LDTD when interfaced with an Orbitrap, the limit of detection was determined as 3.3 times the error on the y-intercept, divided by the slope of the regression [22]. Method accuracy, recovery rates and matrix effects were evaluated at two concentrations levels (15 and 120 ng L⁻¹). Calculation of the matrix effect (%) is described hereafter (Eq.1), positive values indicating signal enhancement and negative values signal suppression: Matrix effect = $100 * \left(1 - \frac{S}{M - R_f}\right)$ (Eq.1). S being the analyte to internal standard response ratio in matrix-free spiked solvent, M is the analyte to internal standard response ratio in spiked matrix, and R_f the analyte to internal standard response ratio of the non-spiked matrix.

Recovery (%) was determined as: Recovery = $100 * \frac{SB-NS}{SA-NS}$ (Eq.2) with SB the analyte to internal standard response ratio of the sample spiked before extraction, SA the analyte to internal standard response ratio of the sample spiked after extraction, and NS the analyte to internal standard response ratio of the reference (non-spiked sample).

Interday and intraday precision were also determined at two levels by spiking matrix-containing extracts post extraction, in triplicate. Since 5 LDTD analyses were run for each sample, intraday precision corresponded to the relative standard deviation (RSD) of 15 analyses, while interday precision was determined by repeating the process over three different days (n = 45).

2.7. Statistics

Statistics were performed with the R software (R version 2.15.3, R Core Team, 2013). Statistical significance was defined as p<0.05, ANOVA and Tukey's HSD (Honestly Significant Difference) tests being applied to examine differences among groups. Experimental designs were generated with the DoE.base or rsm R-packages, and response surfaces fitted to results using the rsm R-package.

3. Results and Discussion

3.1. Preliminary experiments

Molecules analyzed by LDTD should not be too volatile nor should they bond too strongly with the stainless steel alloy which the inserts are made of. Since no LDTD optimization has been reported yet for its use with surfactants, there were legitimate concerns to establish if LDTD was suitable for PFASs. A preliminary experiment was conducted on PFOA, PFDA, PFUnA, PFDoA and PFOS in filtered wastewater spiked at $200\ \mu\text{g L}^{-1}$ and directly deposited on the LazWell plate, without prior SPE concentration. While a moderate laser power (45–65%) seemed adequate for medium perfluoroalkyl chain length carboxylates (PFOA, PFDA, PFUnA and PFDoA), combining satisfactory signal intensity and acceptable variability (RSD range: 4–23%), it was shown that, in the case of PFOS, higher laser powers were needed to promote analyte desorption (**Fig.1**).

No significant improvement was achieved when adjusting sample pH (SI **Fig.S-4**). When varied in the range 3 – 11, pH had no significant impact on signal intensity; conversely, high pH values (≥ 13) induced a dramatic decrease in signal intensity, presumably a consequence of perfluoroalkyl sodium salt formation (R-COONa or $\text{R-SO}_3\text{Na}$), the volatility of which is lower than that of the corresponding perfluoroalkyl acid. Finally, the influence of NH_4OH concentration was explored (SI **Fig.S-5**). No effect was observed for PFOS whereas perfluoroalkyl carboxylate peak intensities were promoted by NH_4OH concentrations greater than 20%. The acidic constant of perfluoroalkyl sulfonic acids being approximately 10^6 times lower than that of perfluoroalkyl carboxylic acids [36, 37], PFOS is readily dissociated and ionized in negative mode, while perfluoroalkyl carboxylic acid dissociation and ionization are likely favored by the formation of ammoniated adduct.

For this initial set of experiments, a Thermo TSQ Quantum Finnigan triple quadrupole (QqQ) mass spectrometer was used. Since LDTD acquisition runs are only 9-second long, this would not have allowed for more than 6–8 transitions to be properly acquired at once, hence the decision to shift to an Orbitrap MS analyzer for subsequent experiments that would involve a larger number of molecules than the five PFASs initially investigated.

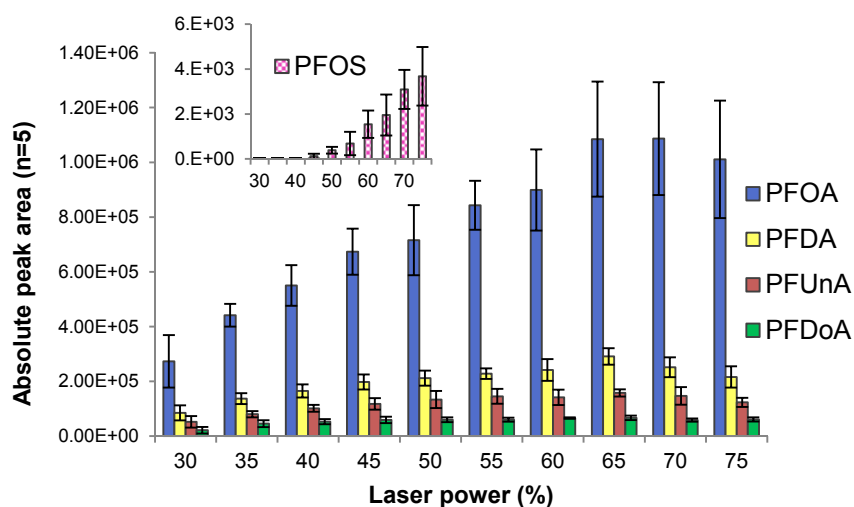


Fig.1. Influence of laser power. Preliminary experiment conducted with LDTD/APCI-QqQ-MS on filtered wastewater spiked at $200\ \mu\text{g L}^{-1}$ and directly deposited onto the LazWell plates (carrier gas flow: $2\ \text{L min}^{-1}$).

3.2. SPE and filtration tests

Matrix effects can significantly hamper analyte detection, especially in the case of LDTD since no chromatographic separation is involved. In the initial procedure tested, wastewater filtrates were passed through Strata X-AW cartridges, rinsed with HPLC-water and dried prior to MeOH/NH₄OH elution. Dramatic signal suppression was observed in wastewater extracts spiked post-extraction, possibly as a consequence of insufficient clean-up. Sulfonate signal was totally lost at levels lower or equal than 10 ng mL⁻¹ in the extract, while short to medium chain length carboxylates weathered signal suppression better (data not shown). The performance of five different extraction protocols was therefore assessed by spiking post-extraction raw wastewater extracts (120 ng mL⁻¹ in EtOAc). A MeOH wash just before the MeOH/NH₄OH elution step was not effective enough, neither was the use of a 0.25 g graphite clean-up, nor the combination of both (SI **Table S-6**). However, increasing the amount of sorbent to 2 g (coconut charcoal) efficiently reduced the matrix effect that had hitherto hampered sulfonate detection.

Another potential pitfall lies in the artifacts that may be induced by the initial filtration step. Nylon and polyethersulfone membrane filters have been reported to be inappropriate for PFAS filtration [38, 39]; thence, filtration tests were limited to glass fiber, cellulose acetate, and polycarbonate membrane filters (SI **Fig.S-11**). Glass fiber filters (GF/F) and polycarbonate filters showed similar characteristics with respect to PFAS sorption, with recoveries in the range 69–118% and 65–118%, respectively. GF/F were however preferred for the greater filtration ease they offered.

3.3. Optimization of LDTD and mass spectrometry parameters

Following the demonstration of LDTD suitability for PFAS analysis, four different deposition solvents (water, MeOH, ACN and EtOAc) were evaluated. The choice of the solvent of deposition is a critical parameter for LDTD optimization, the nature of the deposition solvent potentially influencing the crystalline structures resulting from the evaporation step prior to LDTD analysis [40]. EtOAc demonstrated statistically significant superiority for the 19 PFASs taken together, as evidenced in **Fig.2** or in Tukey's HSD plot (SI **Fig.S-6**). However, EtOAc, ACN and water showed equivalent performance for FOSA and, in the particular case of sulfonates, ACN performed statistically better than EtOAc. The response of sulfonates was generally lower than that of carboxylates, the average carboxylate to sulfonate area ratio being in the range 1.5–3 for organic solvents, but no less than 10³ for water, making the latter an ineligible deposition solvent for sulfonates.

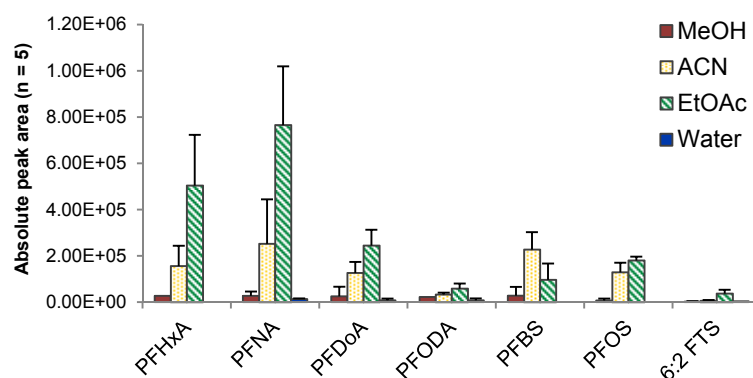


Fig.2. Influence of deposition solvent illustrated for selected PFASs, conducted with LDTD/APCI-Orbitrap-MS (laser power: 65%, carrier gas flow: 2 L min⁻¹).

An additional parameter tested while investigating deposition solvents was the addition of NH₄OH to ACN (SI **Fig.S-7** and **S-8**). While short to medium chain carboxylates were not affected by NH₄OH addition, a strong signal enhancement effect was observed for long-chain perfluoroalkyl acids. Conversely, high NH₄OH percentages led to a sharp drop in signal intensity for all sulfonates. Loss in signal intensity cannot be directly imputed to NH₄OH (see 3.1), but is rather a consequence of the increase of the aqueous percentage in the solvent. In order to keep a single method for all molecules, the use of an ACN/NH₄OH mixture was discarded, and EtOAc was selected as the optimal deposition solvent.

LDTD laser power and carrier gas flow were then optimized simultaneously (**Fig.3**). Short-chain perfluoroalkyl carboxylates (e.g., PFBA) were readily desorbed at low laser power and carrier gas flow, while no particular trend was observed for medium chain-length perfluoroalkyl carboxylic acids (e.g., PFNA), allowing some flexibility in the choice of optimal parameters for the latter. With increasing perfluoroalkyl chain length, however, it became apparent that analyte detection was promoted by higher carrier gas flow rates: PFTeDA required either high laser power or high flow rates, while the longest chain-length carboxylate (PFODA) exhibited the finest responses at 6 L min⁻¹. Another salient finding was that the response of perfluoroalkyl sulfonates or 6:2 FTS was independent of carrier gas flow, yet strongly depended on laser power (**Fig.3**). Since 6:2 FTS and PFDS were particularly arduous to detect, conditions that would favor their detection were chosen: a low carrier gas flow rate of 2 L min⁻¹ and a high laser power of 70%. These conditions were also beneficial to other sulfonates, as well as long-chain carboxylates (except PFODA), while ensuring acceptable mean relative response of short-chain carboxylates (PFBA, PFPeA), higher than 50%.

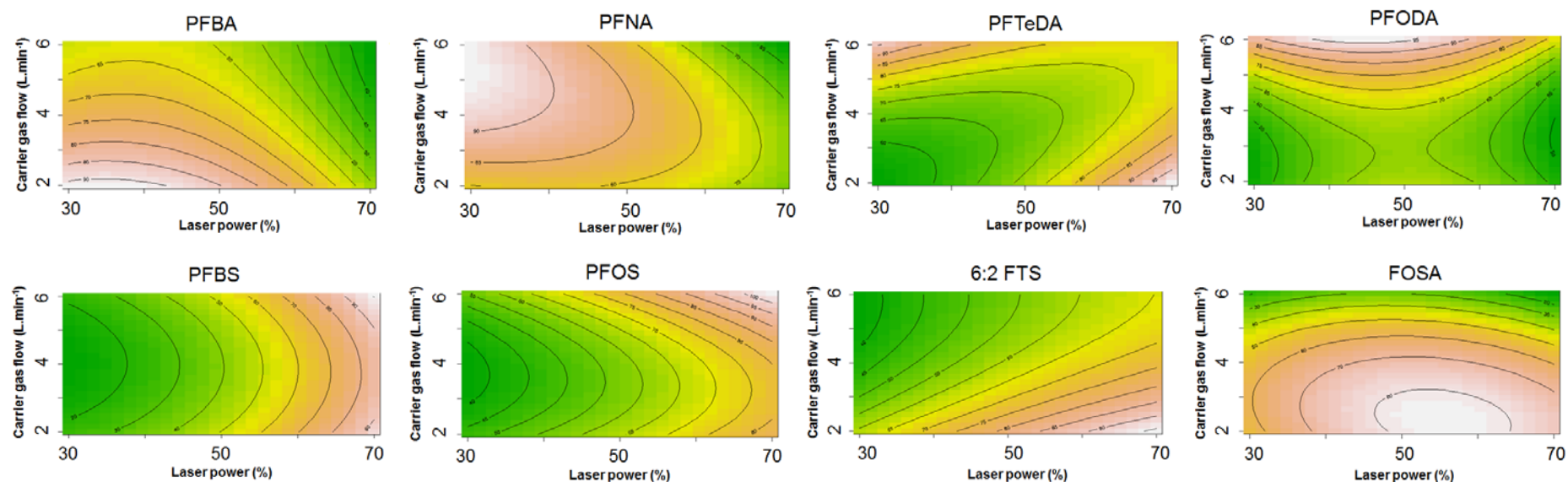


Fig.3. Optimization of laser power (% of maximum power) and carrier gas flow (L min⁻¹) on relative peak area (%), conducted with LDTD/APCI-Orbitrap-MS and illustrated for selected perfluoroalkyl carboxylates (PFBA, PFNA, PFTeDA, PFODA), perfluoroalkyl sulfonates (PFBS, PFOS), fluorotelomer sulfonate (6:2 FTS), and perfluorooctane sulfonamide (FOSA). Lower relative peak areas are colored in green and higher relative peak areas in pink/white.

Apart from laser power, another approach to control the amount of energy applied to the sample is to modify the duration of the laser ramp and the holding time at maximum intensity [22, 23]. Analyte peak shape, intensity and variability were therefore examined for 4 different laser patterns (Fig.4). A more gradual rise in laser power led to a higher signal intensity while peak shape and RSD were not affected. Increasing holding times at maximum power had little or no significant impact on peak areas, yet led the RSD of sulfonates to escalate. It was therefore decided that laser pattern n°2, consisting of a 2 s initial ramp from 0% to 70% with a minimal holding time (0.1 s) at maximum power, would henceforth be applied.

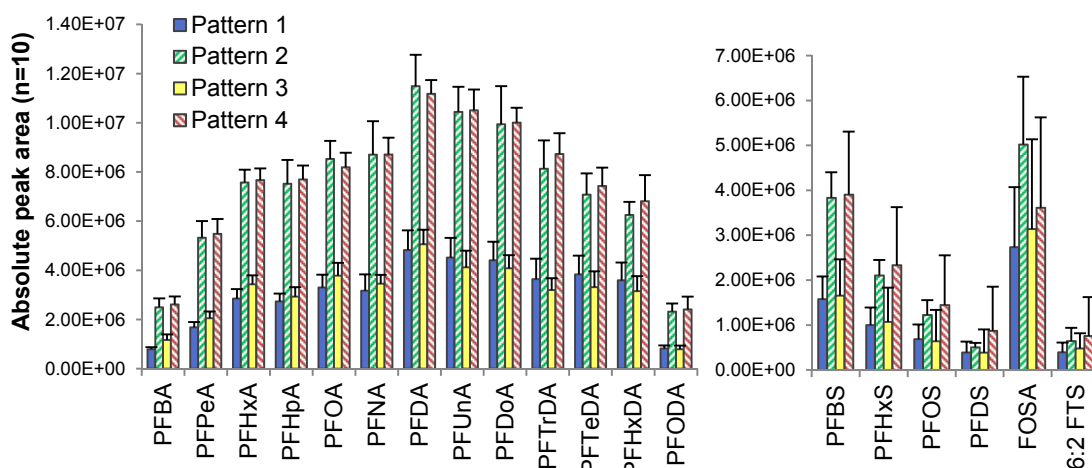


Fig.4. Influence of the four laser patterns on analyte absolute peak area, conducted with LDTD/APCI-Orbitrap-MS. EtOAc was the deposition solvent, laser power was set at 70% and carrier gas flow at 2 L min⁻¹.

Mass spectrometry parameters were then optimized simultaneously using a Box Behnken design involving injection time (IT), automatic gain control (AGC) and resolution (Table 1b), while the effect of lurking variables was attenuated by randomizing the design. Higher peak areas were generally associated with conditions combining the highest AGC target ($5 \cdot 10^6$) with either 35 000 or 70 000 resolution, namely methods BB3, BB10 and BB12 (SI Table S-4). Another noteworthy progress obtained with these methods was the reduction in signal variability (SI Table S-5), except for FOSA where no appreciable improvement was reported; a higher resolution of 70 000 was finally preferred to lessen the risk of false positives. Having elected AGC and resolution, the two methods left to compare were BB10 and BB12, whose only difference was injection time (20 and 180 ms, respectively). Although BB12 was statistically superior for sulfonates, this method was not selected forthwith; it was decided instead to carry on an additional experiment by varying IT in OFAT mode (at 7 discrete steps) in the presence of a wastewater matrix (spiked post-extraction), rather than in the matrix-free solvent (SI Fig.S-10), leading to the choice of a relatively short injection time (50 ms).

3.4. Method Validation

In-matrix wastewater method validation results are summarized in **Table 2**.

Table 2. In-matrix method validation results (LDTD/APCI-Orbitrap-MS) for the wastewater influent filtrate (extraction: Strata XAW 0.2 g/ Coconut charcoal 2g). When applicable, RSD (%) is specified in brackets. Percentages for intraday and interday precision are coefficients of variation.

	Linearity range* ng L ⁻¹	R ²	LOD ng L ⁻¹	Recovery rate %		Accuracy %		Intraday precision %		Interday precision %		Matrix effect %	
Level (ng L ⁻¹)				15	120	15	120	15	120	15	120	15	120
PFBA	2 – 150	0.9906	2	79 (5)	72 (10)	97 (4)	87 (5)	23	28	25	34	-132	-6
PFPeA	0.5 – 150	0.9977	0.5	105 (1)	106 (1)	79 (8)	92 (3)	29	30	33	36	19	20
PFHxA	0.7 – 150	0.9971	0.7	102 (2)	102 (3)	79 (4)	93 (1)	11	12	16	14	-2	10
PFHpA	0.8 – 100	0.9985	0.8	99 (3)	101 (7)	76 (8)	123 (12)	16	14	17	26	-32	-2
PFOA	0.7 – 100	0.9958	0.7	101 (1)	102 (5)	80 (20)	121 (18)	15	14	18	27	-22	5
PFNA	0.3 – 150	0.9966	0.3	100 (2)	101 (5)	92 (10)	94 (11)	10	13	18	14	-22	1
PFDA	0.3 – 100	0.9983	0.3	95 (4)	96 (5)	97 (4)	115 (19)	9	22	15	33	-24	3
PFUnA	0.3 – 150	0.9975	0.3	80 (5)	82 (6)	94 (9)	94 (2)	10	10	14	12	-10	0.3
PFDoA	0.3 – 100	0.9975	0.3	50 (5)	53 (6)	106 (11)	90 (4)	8	7	12	9	-15	1
PFBS	0.7 – 200	0.9999	0.7	104 (1)	96 (6)	94 (0.4)	97 (1)	4	5	6	5	-48	6
PFHxS	0.6 – 200	0.9999	0.6	100 (2)	100 (5)	96 (3)	99 (1)	6	4	6	4	-16	20
PFOS	0.8 – 200	0.9996	0.8	92 (5)	93 (5)	103 (8)	96 (4)	10	5	11	7	-2	25
PFDS	3 – 200	0.9997	3	38 (7)	45 (6)	93 (16)	98 (2)	10	8	14	7	-31	20
FOSA**	3 – 150	0.9989	3	91 (5)	74 (6)	93 (5)	106 (3)	7	9	19	15	-40	4
6:2 FTS	4 – 200	0.9966	4	136 (8)	69 (2)	80 (23)	105 (3)	27	9	42	18	-1	32

* From LOD to the maximum level tested (200 ng L⁻¹). ** Based on FOSA absolute peak area rather than analyte / IS ratio.

Standard addition calibration curves were produced with excellent linearity, with correlation coefficients (R^2) in the range 0.9906–0.9998 for carboxylates and 0.9968–0.9999 for sulfonates, and residuals deviating < 15 % (in absolute terms) from the calculated trend lines.

Limits of detection were derived from the calibration curve and ranged between 0.3–4 ng L⁻¹ in the wastewater influent matrix (dissolved phase). In the case of PFOS, the detection limit in the wastewater influent matrix was 0.8 ng L⁻¹, which is compatible with the 1.5–1140 ng L⁻¹ PFOS concentration range (median: 4.9 ng L⁻¹) reported in wastewater influents across Canada [41]. Recoveries were controlled by the perfluoroalkyl chain length: short to medium-chain sulfonates exhibited high recoveries in the range (92–104%), while that figure dropped to 38–45% for PFDS. The same phenomenon was observed for carboxylates, with good recoveries from PFBA to PFUnA (72–106%), while the recovery rate of PFDoA fell around 50–53%. Method accuracy was determined at two spike levels and proved adequate, 11 PFASs out of 15 displaying accuracies between 80 and 120% (range 76–135% for all 15 PFASs). Intraday precision was below 20% for 11/15 PFASs (range 4–30% for all 15 PFASs), and interday precision below 20% for 9/15 PFASs. Matrix effects remained moderate at the highest spike level ($\leq 20\%$ for most PFASs) through effective sample clean-up.

3.5. Application to Environmental Analysis

Method applicability was assessed through the analysis of river water (n=7), tap water (n=2), and wastewater samples (n=7). Five-point standard addition calibration curves were built for each matrix type, internal standards (20 ng mL⁻¹) being added to extracts prior deposition on the LazWell plate. Concentrations were all blank-corrected, the main congeners found in procedural blanks being PFBA, PFPeA and PFOA (0.5±0.2 ng, 0.6±0.3 ng and 0.1±0.04 ng, respectively).

6 congeners out of the 15 targeted PFASs were quantified in surface waters from the Montreal area (**Table 3**). PFOA and PFNA were quantified in all samples (range: 0.19–0.72 and 0.07–0.21 ng L⁻¹, respectively) and PFDA in all samples but one (range: <0.02–0.25 ng L⁻¹), while long-chain PFASs were not detected. ΣPFASs at these 7 sampling sites was in the range 0.4–1.7 ng L⁻¹, about one to two orders of magnitude lower than ΣPFASs typically found in rivers from Western Europe [39, 42, 43]. The relatively low PFAS levels observed are in good agreement with concentrations previously reported in Canadian rivers [41].

PFOS and PFOA were the main congeners found in tap water from Montreal (0.59 and 0.69 ng L⁻¹, respectively) at levels substantially lower than USEPA provisional guidelines for drinking water [44]. Other congeners quantified at low levels in Montreal tap water included short-chain carboxylates such as PFHxA, PFHpA and PFNA (range: 0.13–0.25 ng L⁻¹), while no PFASs were quantified in tap water from Laval.

In wastewater influent samples (**Table 4**), 9 congeners out of 15 were quantified in either the dissolved phase or the SPM. The main congener found in the dissolved phase was PFOA which was systematically quantified (4.5–23 ng L⁻¹), in excellent agreement with values reported for a WWTP located in the USA (9–24 ng L⁻¹) [45]. Equally noteworthy was the presence of PFNA and PFDA, although generally at lower concentrations (2.9–7.6 ng L⁻¹ and 2.3–6.5 ng L⁻¹, respectively). In the SPM, ΣPFASs fell in the range <LOD–176 ng g⁻¹ dry weight, WWTP 2 displaying the highest total with PFOS and PFOA the principal congeners of the molecular pattern (42 and 22%, respectively), followed by 6:2 FTS, PFHxS and PFHxA (15, 10 and 7 %, respectively). Based on the above and on previous studies [9, 45], levels in the same order of magnitude, if not higher, are also likely to be found in waste water sludge, a worrisome perspective given that agricultural soils are often the ultimate repository for WWTP biosolids.

Table 3. PFASs levels (ng L⁻¹) found in surface water (SW) and tap water (Tap) in the vicinity of Montreal, obtained by LDTD/APCI-Orbitrap-MS. Reported concentrations are all blank-corrected.

	Sample Type	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFOS
Lachine	SW	0.12	0.10	0.21	0.09	<LOD	<LOD
Ile des Sœurs	SW	0.15	0.12	0.72	0.21	0.18	0.27
Pointe-aux-Trembles	SW	0.14	0.09	0.61	0.07	0.09	0.42
St-Sulpice	SW	<LOD	<LOD	0.27	0.13	0.11	<LOD
St-Leonard	SW	<LOD	<LOD	0.26	0.12	0.25	<LOD
Genevieve	SW	<LOD	0.13	0.19	0.14	0.14	<LOD
Lakeshore	SW	<LOD	<LOD	0.32	0.18	0.09	<LOD
Montreal	Tap	0.25	0.25	0.69	0.13	<LOD	0.59
Laval	Tap	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Blank (ng)		0.06	0.06	0.12	ND*	ND	ND
Blank SD (ng)		0.02	0.02	0.05	-	-	-
LOD (SW)		0.09	0.09	0.21	0.09	0.05	0.14
LOD (Tap)		0.04	0.04	0.11	0.04	0.03	0.07

When the analyte was detected in procedural blanks, the reported method limit of detection (LOD) was computed as 4.303 times (Student's t for 2 degrees of freedom and $\alpha = 5\%$) the standard deviation (SD) of blanks (n=3). When the analyte was not found in blanks, LODs were based on 3.3 times the error on the y-intercept divided by the slope of the regression. Blank levels are expressed in ng, for 1 L of HPLC-grade water that went through the entire extraction procedure. *ND: non-detected in blanks.

Table 4. PFASs levels found in wastewater (dissolved phase, ng L⁻¹) and suspended particulate matter (ng g⁻¹ dw) of WWTP influents across Canada, obtained by LDTD/APCI-Orbitrap-MS. Reported concentrations are all blank-corrected.

	PFPeA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFBS	PFHxS	PFOS	6:2 FTS				
Matrix	Diss. phase	Diss. Phase	SPM	Diss. phase	Diss. phase	SPM	Diss. phase	SPM	Diss. phase	SPM	Diss. phase	SPM	SPM	SPM
Unit	ng L ⁻¹	ng L ⁻¹	ng g ⁻¹	ng L ⁻¹	ng L ⁻¹	ng g ⁻¹	ng L ⁻¹	ng g ⁻¹	ng L ⁻¹	ng g ⁻¹	ng L ⁻¹	ng g ⁻¹	ng g ⁻¹	ng g ⁻¹
WWTP 1	<LOD	3.3	<LOD	1.9	7.3	72	3.3	14	2.5	14	<LOD	<LOD	44	<LOD
WWTP 2	1.7	14	<LOD	9.0	23	38	3.7	<LOD	2.9	<LOD	<LOD	18	74	27
WWTP 3	<LOD	1.3	<LOD	0.7	4.9	22	2.9	<LOD	2.6	<LOD	<LOD	<LOD	31	4.7
WWTP 4	<LOD	0.5	<LOD	1.2	6.8	<LOD	7.6	<LOD	6.5	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
WWTP 5	<LOD	0.7	36	0.5	4.8	36	2.5	<LOD	2.3	13	<LOD	<LOD	14	<LOD
WWTP 6	<LOD	0.7	19	0.9	4.5	19	5.7	<LOD	4.0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
WWTP 7	<LOD	4.2	32	1.9	6.4	32	5.1	14	4.7	14	1.0	<LOD	<LOD	17
Blank (ng)	0.65	0.06	ND*	0.06	0.12	0.04	ND	0.02	ND	0.04	ND	ND	ND	ND
Blank SD	0.31	0.02	-	0.02	0.05	0.06	-	0.04	-	0.05	-	-	-	-
LOD**	1.33	0.09	12	0.09	0.21	13	0.22	9	0.38	12	0.77	4	1.5	1.5

*ND: non-detected in blanks.

**The reported method limit of detection (LOD) was computed as 4.303 times (Student's t for 2 degrees of freedom and $\alpha = 5\%$) the standard deviation (SD, ng) of blanks when the analyte was detected in procedural blanks, and as 3.3 times the error on the y-intercept divided by the slope of the regression when the analyte was not found in blanks. Note that LODs were expressed in ng L⁻¹ for the dissolved phase and in ng g⁻¹ for the SPM. Blank levels are expressed in ng, for 1 L of HPLC-grade water (dissolved phase) or particle-free GFF filters (SPM) that went through the entire extraction procedure.

4. Conclusions

The optimization scheme, which combined both one-factor-at-a-time methods and experimental designs (DOEs), led to the choice of optimal parameters for the determination of 15 target PFASs in a 20 s single run. LDTD optimal settings were achieved by combining a high laser power (70%) and low carrier gas flow (2 L min^{-1}), and mass spectrometry parameters were simultaneously investigated in a Box Behnken design, prompting us to choose a maximum AGC target ($5 \cdot 10^6$), a resolution of 70 000 and a 50 ms injection time. The DOE approach appeared useful to identify specific instrumental settings for the LDTD/APCI-Orbitrap-MS coupling; in addition, the LDTD parameters reported in the present manuscript may be applied as-is to other mass spectrometry platforms. Environmentally relevant method detection limits were reported, falling in the range $0.3\text{--}4 \text{ ng L}^{-1}$ in wastewater and $0.03\text{--}0.2 \text{ ng L}^{-1}$ in surface water samples. Target compounds were unequivocally detected in several wastewater influents ($<\text{LOD}\text{--}23 \text{ ng L}^{-1}$ in the dissolved phase and $<\text{LOD}\text{--}74 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ in the SPM), as well as in surface water and tap water from the Montreal area ($<\text{LOD}\text{--}0.8 \text{ ng L}^{-1}$). Eliminating the chromatographic step prior to MS analysis reduced solvent consumption and potential contamination risk from tubings and mobile phases, as well as analysis times, making it a relevant alternative for sample screening of PFASs.

Acknowledgements

The authors are indebted to S. Patel, M. Pelletier, S.A. Smyth and S. Teslic from Environment Canada and M. Desrosiers from the Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec (CEAEQ) for the samples provided. We also acknowledge technical support from Phytronix Technologies and Thermo Fischer Scientific. We thank the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, the Fond de recherche du Québec and the Canadian Foundation for Innovation (equipment) for their financial support. The Aquitaine Region and the European Regional Development Fund are also acknowledged for their financial support. This work was supported by the Cluster of Excellence COTE (ANR-10-LABX-45) and by the CNRS (EC2CO-Ecodyn program). This project was supported by Quebec's Ministère des Relations Internationales and the Ministère des Affaires Étrangères et Européennes de la République française (General Consulate of France in Quebec City) during the 63^{ème} and 64^{ème} Commission Permanente de Coopération Franco-Québécoise (CPCFQ). IdEx from the University of Bordeaux is commended for the mobility and PhD grant allocated to G. Munoz.

References

- [1] Richardson, S. D. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 4645–4677.
- [2] Prevedouros, K.; Cousins, I.T.; Buck, R.C.; Korzeniowski, S. Sources, Fate and Transport of Perfluorocarboxylates. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 32–44.
- [3] Ahrens, L. Polyfluoroalkyl compounds in the aquatic environment: a review of their occurrence and fate. *J. Environ. Monit.* **2011**, *13*, 20.
- [4] Ahrens, L.; Bundschuh, M. Fate and effects of poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: a review. *Environ. Toxicol. Chem.* **2014**, *33*, 1921–1929.
- [5] Houde, M.; Martin, J.W.; Letcher, R.J.; Solomon, K.; Muir, D.C.G. Biological Monitoring of Polyfluoroalkyl Substances: A Review. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 3463–3473.
- [6] Lau, C.; Anitole, K.; Hodes, C.; Lai, D.; Pfahles-Hutchens, A.; Seed, J. Perfluoroalkyl acids: a review of monitoring and toxicological findings. *Toxicol. Sci.* **2007**, *99*, 366–394.
- [7] <<http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/ListingofPOPs/tabid/2509/Default.aspx>>
- [8] Hansen, K.J.; Johnson, H.O.; J.S. Eldridge.; Butenhoff, J.L.; Dick, L.A. Quantitative characterization of trace levels of PFOS and PFOA in the Tennessee River. *Environ. Sci. Technol.* **2002**, *36*, 1681–1685.
- [9] Chen, H.; Zhang, C.; Han, J.; Yu, Y.; Zhang, P. PFOS and PFOA in influents, effluents, and biosolids of Chinese wastewater treatment plants and effluent-receiving marine environments. *Environ. Pollut.* **2012**, *170*, 26–31.
- [10] Cai, M.; Yang, H.; Xie, Z.; Zhao, Z.; F. Wang.; Lu, Z.; Sturm, R.; Ebinghaus, R. Per- and polyfluoroalkyl substances in snow, lake, surface runoff water and coastal seawater in Fildes Peninsula, King George Island, Antarctica. *J. Hazard. Mater.* **2012**, 335–342.
- [11] Nakata, H.; Kannan, K.; Nasu, T.; Cho, H.S.; Sinclair, E.; Takemura, A. Perfluorinated Contaminants in Sediments and Aquatic Organisms Collected from Shallow Water and Tidal Flat Areas of the Ariake Sea, Japan: Environmental Fate of Perfluorooctane Sulfonate in Aquatic Ecosystems. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 4916–4921.
- [12] Xu, W.; Wanga, X.; Caia, Z. Analytical chemistry of the persistent organic pollutants identified in the Stockholm Convention: A review. *Anal. Chim. Acta* **2013**, *790*, 1–13.
- [13] van Leeuwen, S.P.J.; de Boer, J. Extraction and clean-up strategies for the analysis of poly- and perfluoroalkyl substances in environmental and human matrices. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1153*, 172–185.
- [14] Jahnke, A.; Berger, U. Trace analysis of per- and polyfluorinated alkyl substances in various matrices—How do current methods perform? *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 410–421.
- [15] Higgins, C.P.; Field, J.A.; Criddle, C.S.; Luthy, R.G. Quantitative Determination of Perfluorochemicals in Sediments and Domestic Sludge. *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 3946–3956.
- [16] Powley, C.R.; George, S.W.; Ryan, T.W.; Buck, R.C. Matrix Effect-Free Analytical Methods for Determination of Perfluorinated Carboxylic Acids in Environmental Matrixes. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 6353–6358.
- [17] Villagrasa, M.; López de Alda, M.; Barceló, D. Environmental analysis of fluorinated alkyl substances by liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry: a review. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *386*, 953–972.

- [18] Dufková, V.; Cabala, R.; Maradová, D.; Stícha, M. A fast derivatization procedure for gas chromatographic analysis of perfluorinated organic acids. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 8659–8664.
- [19] Mohapatra, D.P.; Brar, S.K.; Tyagi, R.D.; Picard, P.; Surampalli, R.Y. Carbamazepine in municipal wastewater and wastewater sludge: Ultrafast quantification by laser diode thermal desorption-atmospheric pressure chemical ionization coupled with tandem mass spectrometry. *Talanta* **2012**, *99*, 247–255.
- [20] Segura, P.A.; Tremblay, P.; Picard, P.; Gagnon, C.; Sauvé, S. High-Throughput Quantitation of Seven Sulfonamide Residues in Dairy Milk using Laser Diode Thermal Desorption-Negative Mode Atmospheric Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry. *J. Agric. Food. Chem.* **2010**, *58*, 1442–1446.
- [21] Heudi, O.; Barteau, S.; Picard, P.; Tremblay, P.; Picard, F.; Kretz, O. Laser diode thermal desorption-positive mode atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry for the ultra-fast quantification of a pharmaceutical compound in human plasma. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2011**, *54*, 1088–1095.
- [22] Fayad, P.B.; Prévost, M.; Sauvé, S. Laser Diode Thermal Desorption/Atmospheric Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry Analysis of Selected Steroid Hormones in Wastewater: Method Optimization and Application. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 639–645.
- [23] Boisvert, M.; Fayad, P.B.; Sauvé, S. Development of a new multi-residue laser diode thermal desorption atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry method for the detection and quantification of pesticides and pharmaceuticals in wastewater samples. *Anal. Chim. Acta* **2012**, *754*, 75–82.
- [24] Roy-Lachapelle, A.; Fayad, P.B.; Sinotte, M.; Deblois, C.; Sauvé, S. Total microcystins analysis in water using laser diode thermal desorption-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **2014**, *820*, 76–83.
- [25] Perry, R.H.; Cooks, R.G.; Noll, R.J. Orbitrap Mass Spectrometry: Instrumentation, Ion Motion and Applications. *Mass Spectrom. Rev.* **2008**, *27*, 661–699.
- [26] Zubarev, R.A.; Makarov, A. Orbitrap Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 5288–5296.
- [27] Michalski, A.; Damoc, E.; Hauschild, J.-P.; Lange, O.; Wiegand, A.; Makarov, A.; Nagaraj, N.; Cox, J.; Mann, M.; Horning, S. Mass Spectrometry-based Proteomics Using Q Exactive, a High-performance Benchtop Quadrupole Orbitrap Mass Spectrometer. *Mol. Cell. Proteomics* **2011**, *10*.
- [28] Wang, J.; Chow, W.; Leung, D.; Chang, J. Application of Ultrahigh-Performance Liquid Chromatography and Electrospray Ionization Quadrupole Orbitrap High-Resolution Mass Spectrometry for Determination of 166 Pesticides in Fruits and Vegetables. *J. Agric. Food. Chem.* **2012**, *60*, 12088–12104.
- [29] Zhang, T.; Creek, D. J.; Barrett, M.P.; Blackburn, G.; Watson, D.G. Evaluation of coupling reversed phase, aqueous normal phase, and hydrophilic interaction liquid chromatography with orbitrap mass spectrometry for metabolomic studies of human urine. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 1994–2001.
- [30] Henry, H.; Sobhi, H.R.; Scheibner, O.; Bromirski, M.; Nimkar, S.B.; Rochat, B. Comparison between a high-resolution single-stage Orbitrap and a triple quadrupole mass spectrometer for quantitative analyses of drugs. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2012**, *26*, 499–509.
- [31] Farré, M.; Picó, Y.; Barceló, D. Application of ultra-high pressure liquid chromatography linear ion-trap orbitrap to qualitative and quantitative assessment of pesticide residues. *J. Chromatogr. A* **2014**, *1328*, 66–79.
- [32] Abdallaha, H.; Arnaudguilhem, C.; Jaber, F.; Lobinski, R. Multiresidue analysis of 22 sulfonamides and their metabolites in animal tissues using quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction and high resolution mass spectrometry (hybrid linear ion trap-Orbitrap). *J. Chromatogr. A* **2014**, *1355*, 61–72.

- [33] Bertin, D.; Ferrari, B.J.D.; Labadie, P.; Sapin, A.; Garric, J.; Budzinski, H.; Houde, M.; Babut, M. Bioaccumulation of perfluoroalkyl compounds in midge (*Chironomus riparius*) larvae exposed to sediment. *Environ. Pollut.* **2014**, *189*, 27–34.
- [34] Wu, J.; Hughes, C.S.; Picard, P.; Letarte, S.; Gaudreault, M.; Lévesque, J.F.; Nicoll-Griffith, D.A.; Bateman, K.P. High-Throughput Cytochrome P450 Inhibition Assays Using Laser Diode Thermal Desorption-Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 4657–4665.
- [35] Kalli, A.; Smith, G.T.; Sweredoski, M.J.; Hess, S. Evaluation and optimization of mass spectrometric settings during data-dependent acquisition mode: focus on LTQ-Orbitrap mass analyzers. *J. Proteome Res.* **2013**, *12*, 3071–3086.
- [36] Brace, N.O. Long chain alkanolic and alkenolic acids with perfluoroalkyl terminal segments. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 4491–4498.
- [37] Brooke, D.; Footitt, A.; Nwaogu, T.A. Environmental risk evaluation report: Perfluorooctanesulphonate (PFOS). **2004**, Research Contractor: Building Research Establishment Ltd, Risk and Policy Analysts Ltd.
- [38] Schultz, M.M.; Barofsky, D.F.; Field, J. A. Quantitative Determination of Fluorinated Alkyl Substances by Large-Volume-Injection Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry – Characterization of Municipal Wastewaters. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 289–295.
- [39] Labadie, P.; Chevreuil, M. Biogeochemical Dynamics of Perfluorinated Alkyl Acids and Sulfonates in the River Seine (Paris, France) Under Contrasting Hydrological Conditions. *Environ. Pollut.* **2011**, *159*, 3634–3639.
- [40] Lahra, M.; Leiserowitz, L. The effect of solvent on crystal growth and morphology. *Chem. Eng. Sci.* **2001**, *56*, 2245–2253.
- [41] Gewurtz, S.B.; Backus, S.M.; De Silva, A.O.; Ahrens, L.; Armellin, A.; Evans, M.; Fraser, S.; Gledhill, M.; Guerra, P.; Harner, T.; Helm, P.A.; Hung, H.; Khara, N.; Kim, M.G.; King, M.; Lee, S.C.; Letcher, R.J.; Martin, P.; Marvin, C.; McGoldrick, D.J.; Myers, A.L.; Pelletier, M.; Pomeroy, J.; Reiner, E.J.; Rondeau, M.; Sauve, M.C.; Sekela, M.; Shoeib, M.; Smith, D.W.; Smyth, S.A.; Struger, J.; Spry, D.; Syrgiannis, J.; Waltho, J. Perfluoroalkyl acids in the Canadian environment: Multi-media assessment of current status and trends. *Environ. Int.* **2013**, *59*, 183–200.
- [42] Ahrens, L.; Felizeter, S.; Sturm, R.; Xie, Z.; Ebinghaus, R. Polyfluorinated compounds in waste water treatment plant effluents and surface waters along the River Elbe, Germany. *Marine Pollution Bulletin* **2009**, *58*, 1326–1333.
- [43] Axel Möller, A.; Ahrens, L.; Sturm, R.; Westerveld, J.; van der Wielen, F.; Ebinghaus, R.; de Voogt, P. Distribution and sources of polyfluoroalkyl substances (PFAS) in the River Rhine watershed. *Environ. Pollut.* **2010**, *158*, 3243–3250.
- [44] US EPA. **2009**. Provisional Health Advisories for Perfluorooctanoic Acid (PFOA) and Perfluorooctane Sulfonate (PFOS).
<http://water.epa.gov/action/advisories/drinking/upload/2009_01_15_criteria_drinking_pha-PFOA_PFOA.pdf> consulted 2014.01.11.
- [45] Schultz, M.M.; Higgins, C.P.; Huset, C.A.; Luthy, R.G.; Barofsky, D.F.; Field, J.A. Fluorochemical Mass Flows in a Municipal Wastewater Treatment Facility. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 7350–7357.

CHAPITRE IV

DYNAMIQUE BIOGEOCHIMIQUE DES PFAS DANS LES MILIEUX AQUATIQUES CONTINENTAUX ET ESTUARIENS

DYNAMIQUE BIOGEOCHIMIQUE DES PFAS DANS LES MILIEUX AQUATIQUES CONTINENTAUX ET ESTUARIENS

Cette partie vise à documenter l'occurrence et la distribution spatiale des PFAS dans les milieux aquatiques continentaux et estuariens. Une évaluation de la contamination des matrices eau et sédiment par les PFAS à grande échelle spatiale en France métropolitaine et dans les cinq Départements d'Outre-Mer (DOM) est proposée dans les deux premiers axes de ce chapitre. Ces résultats s'inscrivent dans le contexte de la campagne prospective de 2012 (convention INERIS–ONEMA) qui avait pour objectif de mettre à jour les listes de micropolluants d'intérêt émergent devant faire l'objet d'un suivi à l'échelle nationale (Botta et Dulio, 2014). Le chapitre **IV.1** renseigne l'occurrence, les niveaux et les profils de PFAS dans les eaux de surface (133 sites ; 3 campagnes d'échantillonnage) et les sédiments (129 sites ; 1 campagne) en France métropolitaine, et évalue leur distribution spatiale, en lien avec la typologie des sites. Dans la même veine que le précédent, le chapitre **IV.2** présente les résultats de la campagne d'échantillonnage menée dans les DOM, couvrant les eaux de surface (25 sites ; 3 campagnes d'échantillonnage), les eaux souterraines (40 sites ; 2 campagnes) et les sédiments (15 sites ; 1 campagne). Dans chacun de ces deux volets, des techniques alternatives pour le calcul des statistiques descriptives ou des corrélations ont été mises en œuvre afin de prendre en compte les valeurs censurées ($< LOD$). Une méthode originale de calcul des coefficients de distribution eau–sédiment (K_D et K_{OC}) moyens à l'échelle nationale est également présentée dans le cadre du chapitre **IV.1**. Le chapitre **IV.3** évalue l'occurrence et la distribution spatiale des PFAS dans la colonne d'eau et le sédiment dans un estuaire macrotidal (campagne HALOGIR). A l'exutoire des bassins versants de la Garonne et de la Dordogne, l'estuaire de la Gironde est caractérisé par une zone de forte turbidité (« bouchon vaseux ») qui pourrait partiellement retenir les contaminants avant leur transfert au Golfe de Gascogne. L'échantillonnage a porté sur 31 sites intra-estuaire (18 subtidaux et 13 intertidaux) et 3 sites en mer (vasière Ouest-Gironde). Des modèles empiriques de K_D faisant intervenir la salinité et la charge en matières en suspension ont été développés à partir des équations proposées pour d'autres types de contaminants organiques (Turner et Rawling, 2001). L'influence de facteurs intrinsèques et extrinsèques au sédiment sur les niveaux de PFAS sédimentaires a également été évaluée.

IV.1. Une étude d'envergure nationale pour caractériser la distribution spatiale des PFAS et les déterminants de leur accumulation sédimentaire dans 133 fleuves et lacs de France métropolitaine

Résumé

Dans ce chapitre, une première cartographie de la contamination de 133 fleuves et lacs de France métropolitaine par les composés poly- et perfluoroalkylés (PFAS) est proposée. Les niveaux totaux de PFAS (Σ PFAS) étaient de l'ordre de $< \text{LOD} - 725 \text{ ng L}^{-1}$ en phase dissoute (médiane = 7.9 ng L^{-1}) et $< \text{LOD} - 25 \text{ ng g}^{-1}$ de poids sec dans les sédiments (médiane = 0.48 ng g^{-1} de poids sec). Les sites dits « de référence » sont caractérisés par des concentrations de PFAS en phase dissoute significativement inférieures que les sites sous influence urbaine, industrielle ou agricole. Si le sulfonate de perfluorooctane (PFOS) domine en moyenne le profil moléculaire de PFAS, une analyse multivariée non-linéaire basée sur les réseaux de neurones artificiels a révélé quelques particularités pour certains sites voire certains bassins versants. Ainsi, plusieurs sites le long du Rhône présentaient un profil singulier, les perfluoroalkyle carboxylates (PFCA) dominant l'essentiel du profil – par exemple à l'aval de Lyon, où les PFCA représentent plus de 99 % de Σ PFAS dans le sédiment, sans doute dû à des sources industrielles. Des traitements spécifiques des valeurs tombant en deçà des seuils de détection (valeurs $< \text{LOD}$) ont été appliqués afin de déterminer des statistiques descriptives (ex : moyenne, écart-type), de tester des différences intergroupes, ou d'évaluer les corrélations entre composés. Dans la même optique, une approche originale de calcul des coefficients de distribution eau – sédiment ($\log K_{OC}$ et $\log K_D$) est proposée. Les résultats de l'approche de régression multiple indiquent que les niveaux de PFAS en phase dissoute ainsi que des paramètres intrinsèques au sédiment tels que la fraction de carbone organique et la granulométrie de ces derniers, sont autant de facteurs de contrôle des niveaux de PFAS dans les sédiments.

Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: a French nationwide survey

Gabriel Munoz^a, Jean-Luc Giraudel^a, Fabrizio Botta^c, François Lestremau^c, Marie-Hélène Dévier^a,
Hélène Budzinski^b and Pierre Labadie^{b,*}

^a: University of Bordeaux, EPOC, UMR 5805, LPTC, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France.

^b: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France.

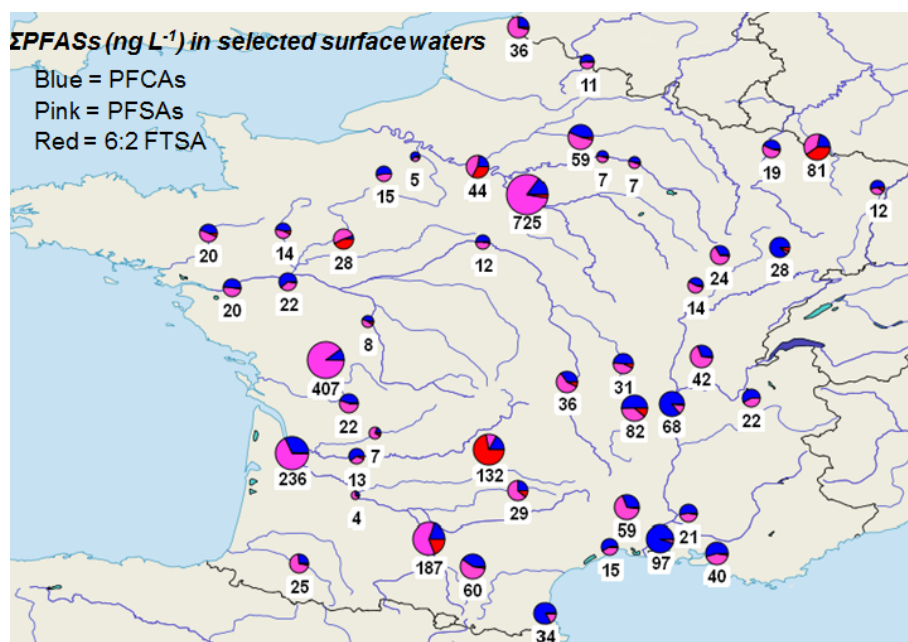
^c: INERIS, Parc Technologique Alata, BP2, 60550 Verneuil-en-Halatte, France.

*Corresponding author. Contact: pierre.labadie@u-bordeaux.fr

Article published in

Science of the Total Environment

Graphical abstract



Highlights

- A large-scale survey of PFASs in 133 French rivers and lakes is reported.
- Descriptive statistics, correlations and partitioning coefficients were determined.
- Non-detects were taken into account using functions from the NADA R-package.
- Hot spots of PFAS contamination were found near large urban and industrial areas.
- PFAS sediment levels were partly controlled by grain size and organic carbon content.

Abstract

The spatial distribution and partitioning of 22 poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) in 133 selected rivers and lakes were investigated at a nationwide scale in mainland France. Σ PFASs was in the range $<\text{LOD}$ –725 ng L⁻¹ in the dissolved phase (median: 7.9 ng L⁻¹) and $<\text{LOD}$ –25 ng g⁻¹ dry weight in the sediment (median: 0.48 ng g⁻¹ dry weight); dissolved PFAS levels were significantly lower at “reference” sites than at urban, rural or industrial sites. Although perfluorooctane sulfonate (PFOS) was found to be the prevalent compound on average, a multivariate analysis based on neural networks revealed noteworthy trends for other compounds at specific locations and, in some cases, at watershed scale. For instance, several sites along the Rhône River displayed a peculiar PFAS signature, perfluoroalkyl carboxylates often dominating the PFAS profile (e.g. downstream of Lyon, PFCA >99 % of Σ PFASs in the sediment, likely as a consequence of industrial point source discharge). Several treatments for data below detection limits (non-detects) were used to compute descriptive statistics, differences among groups, and correlations between congeners, as well as log K_d and log K_{oc} partition coefficients. In that respect, the regression on order statistics (robust ROS) method was preferred for descriptive statistics computation while the Akritas-Theil-Shen estimator was used for regression and correlation analyses. Multiple regression results suggest that PFAS levels in the dissolved phase and sediment characteristics (organic carbon fraction and grain size) may be significant controlling factors of PFAS levels in the sediment.

Keywords

Perfluoroalkyl substances – Water – Sediment – Partitioning – Artificial neural networks – Non-detects

1. Introduction

Poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) are surfactants that have been used since the 1950s in manifold industrial applications, including metal plating, fluoropolymer processing aids, textiles, and fire-fighting foams (Prevedouros et al., 2006; Ahrens and Bundschuh, 2014). However, it was not until the last decade that their environmental fate and ecotoxicology aroused the interest of the scientific community (Kannan, 2011). Since then, PFASs have been reported in biotic and abiotic compartments worldwide, including remote polar areas (Houde et al., 2011). Of all the PFASs currently investigated, perfluorooctane sulfonate (PFOS) remains the most emblematic, due to its ubiquitous character and adverse effects (Lau et al., 2007). Numerous papers have reported on the highly bioaccumulative potential of PFOS in biota (Houde et al., 2011) as well as on its persistence (Olsen et al., 2007). These properties led to the classification of PFOS as a Persistent Organic Pollutant (POP) in 2009, under the framework of the Stockholm Convention (UNEP-POPS-COP.4-SC-4-17). Since then, the use of PFOS-containing products has been drastically restricted by the EU (e.g., PFOS-based aqueous film forming foams being banned since June 2011). However, a number of industrial sectors such as electroplating, photolithography or hydraulic fluids for aviation still benefit from derogations until a non-toxic substitute is available (2010/757/EU Commission Regulation). Other PFASs, which have not been added yet to the listing of POPs in the Stockholm Convention, may also be cause for concern, especially medium and long-chain carboxylates (Wolf et al., 2012; Buhrke et al., 2013).

Until now, only a few surveys have addressed PFAS environmental contamination at nationwide or larger spatial scale. For instance, Loos et al. (2009) targeted 122 rivers in Europe, although the focus was not put exclusively on PFASs. However, by compiling these data with other values from the literature, a first estimate of PFOS and perfluorooctanoate (PFOA) European discharges was calculated (Pistocchi and Loos, 2009). Clara et al. (2009) evaluated the occurrence of perfluoroalkyl sulfonates (PFASs), carboxylates (PFCAs) and sulfonamides at national level, including sediments from 7 Austrian lakes and the river Danube, while Kwadijk et al. (2010) investigated the spatial distribution, sediment-water distribution coefficient, and bioaccumulation factor of 15 selected PFASs across 21 locations in the Netherlands. Boiteux et al. (2012) provided a first nationwide review of PFAS contamination in French raw and treated water for human consumption. In France, PFASs have been reported at relatively high levels in urban hydrosystems such as the River Seine and the River Orge (mean Σ PFASs = 55 ng L⁻¹ and 73 ng L⁻¹, respectively) (Labadie and Chevreuil, 2011a,b), perfluorohexane sulfonate (PFHxS) and PFOS being the dominant PFASs at these sites, and perfluorohexanoate (PFHxA) and PFOA the main PFCAs, as was also observed near the mouth of the River Seine (McLachlan et al., 2007). Labadie and Chevreuil (2011a) reported on the bioaccumulation propensity and tissue-distribution of a wide range of PFASs in fish (European chub), while Munsch et al. (2013) investigated PFAS spatial distribution in shellfish along French coasts, pointing to contrasting patterns between the Atlantic and Mediterranean coasts. Human exposure to PFASs was assessed in a 2007 French survey, PFOS and PFOA being among the most frequently reported PFASs (detection frequency > 90%) in breast milk, at times reaching levels above 0.3 µg L⁻¹ (Antignac et al., 2013).

In this context, the present study aimed at investigating PFAS occurrence and partitioning in mainland France surface water bodies. As part of the implementation of a national action plan on aquatic environment pollution (October 2010), the French Ministry of Ecology decided to launch an innovative and comprehensive approach under the Water Framework Directive (WFD) (2000/60/EC), in order to provide relevant information to update the lists of substances to be included in future monitoring schemes. A vast prospective campaign took place in spring-autumn 2012, which focused not only on potentially contaminated sites (i.e. urban or industrial) but also on supposedly pristine reference sites. Descriptive statistics of PFAS levels or molecular patterns were calculated for this comprehensive dataset which included 333 water and 129 sediment samples. The information was then summarized with the help of artificial neural networks via a Kohonen mapping (Giraudel and Lek, 2001). So far, the PFAS-focused literature has only yielded a few papers dealing with data below detection limits (non-detects) (de Solla et al., 2012; Jaspers et al., 2013; Rig  t et al., 2013; Lam et al., 2014). Given the substantial number of observations that fell below detection limits in the present work, specific statistical treatments were implemented to compute descriptive statistics and to examine correlations between PFASs. An alternative method to determine $\log K_d$ and $\log K_{oc}$ partitioning coefficients taking into account non-detects is also reported in this paper, along with the investigation of factors controlling PFAS sediment levels.

2. Materials and methods

2.1. Investigated compounds

Four different groups of PFASs were targeted: perfluoroalkyl carboxylates, sulfonates, sulfonamides and sulfonamide acetic acids, as well as one fluorotelomer. A total of 22 individual molecules and a cluster of branched PFOS isomers, hereafter referred to as Br-PFOS, were therefore determined. Note that, in this paper, L-PFOS refers to the linear isomer, while “PFOS” refers to the sum of L-PFOS and Br-PFOS. Target analytes, as well as full details on chemicals, standards and consumables are indicated in the Supplementary Information (SI).

2.2. Sampling strategy

Water and sediment samples were collected at 133 locations, including 115 sampling points located in rivers and 18 in lakes (**Fig.1**). River sampling sites were classified into five main types (SI **Table S1**) by the Direction de l'Eau et de la Biodiversit   (DEB, French Ministry of Ecology): reference, farmland, industrial, urban, and “poor ecological status”, the latter reflecting low occurrence of aquatic plants and wildlife (www.eaufrance.fr/s-informer/observer-et-evaluer/etat-des-milieux/rivieres-et-lacs/etat-ecologique). Three campaigns were set up to collect water samples from rivers, leading to a number of 315 water samples. The first campaign took place in April-June 2012, the second one in September 2012, and the third one in November-December 2012. In contrast, a unique water sample was

collected for each lake (June 2012). At each sampling site, a 1 L high density polyethylene (HDPE) bottle was rinsed 3 times with the site surface water, filled to the brim, sealed, and stored in a cooling box (5 ± 3 °C), pending shipment to the laboratory within 24 hours. Sediment samples ($n=129$) were collected during a single sampling campaign (August-November 2012). Only the top layer (1 to 5 cm depth) of the sediment was sampled, in agreement with guidance document #25 of the WFD.

2.3. Sample reception and pre-treatment

Water samples were passed through GF/F (0.7 μ m) Whatman glass microfiber filters (previously baked at 450°C for 6h) using Nalgene® polyethylene filtration units and the filtrate was divided into two 500 mL aliquots stored in HDPE bottles; filtrates were kept at -20°C until analysis.

Sediment samples were wet sieved at 2 mm and ground at <200 μ m before characterization of Total Organic Carbon (TOC), dry matter level, and fine fraction content (mass percent fraction of the <63 μ m fraction over the <2 mm fraction). Particle size was determined by laser granulometry using a Mastersizer 2000 (Malvern Instruments SARL, Orsay, France) and TOC by a TOC-VCSH analyzer (Shimadzu France SAS, Noisiel, France). Sediment samples were freeze-dried, conditioned in 15 mL HDPE tubes and stored in a cooling box. After reception, all samples were stored at 4°C in a cold room until analysis.

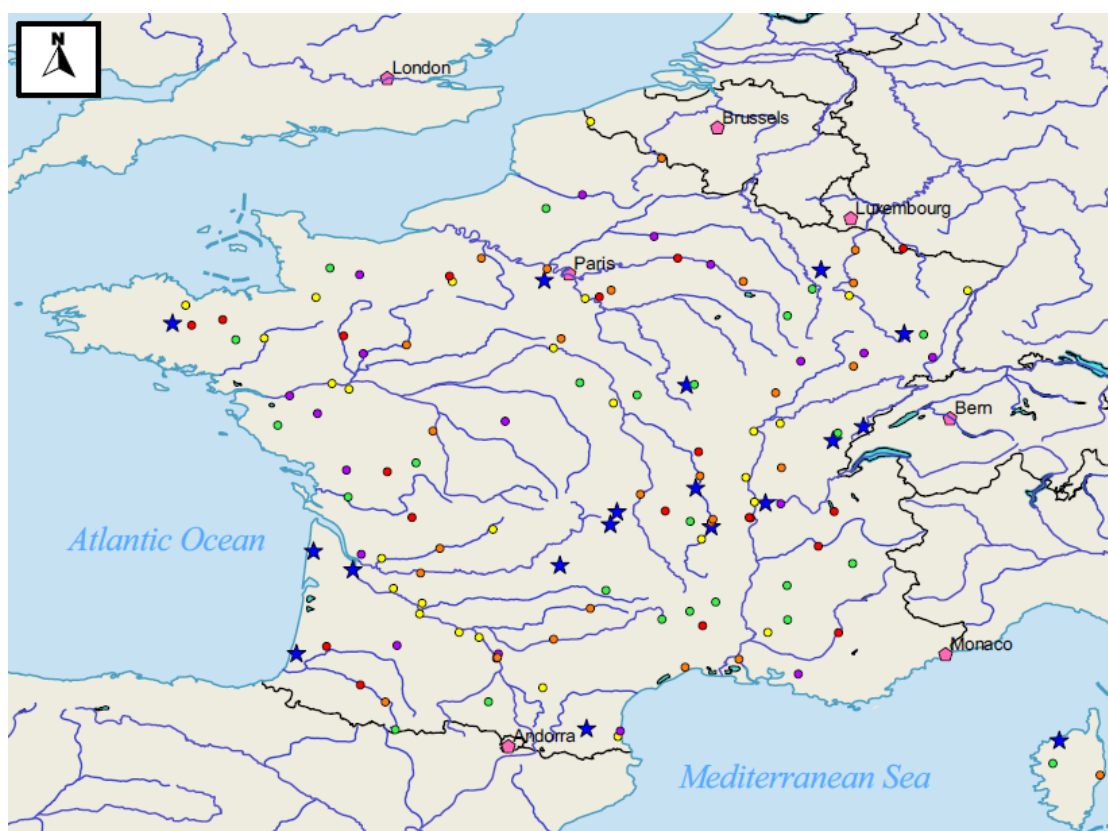


Fig.1. Map showing the 115 river sampling sites (dots) and 18 lake sampling sites (stars). River sites were color-coded according to pressure typology (green = reference; orange = urban; purple = poor ecological status; red = industrial; yellow = farmland).

2.4. Extraction and analysis

Phenomenex Strata X-AW cartridges (200 mg/6 mL) fitted with glass wool cotton were conditioned with 8 mL of MeOH/NH₄OH 0.2 % in water (v/v) and rinsed with 5 mL of Milli-Q water. Water samples (500 mL) were spiked with internal standards (IS, 1 ng each, see **Table S3**), and then pumped through the X-AW cartridges at a rate of approximately 10 mL min⁻¹. After sample loading, cartridges were rinsed with 5 mL of Milli-Q water, dried under vacuum for 45 min and finally centrifuged (3 min, 5000 rpm). Analytes were eluted with 8 mL of MeOH/NH₄OH 0.2 % in water (v/v), the resulting extracts being concentrated to 500 µL at 42°C under a N₂ stream. Following transfer to a polypropylene injection vial, extracts were concentrated to 300 µL, before storage at -20°C until analysis.

Sediment samples were treated with microwave-assisted solvent extraction. Briefly, 1 g of sediment was weighed in the microwave vessel, and spiked with IS (1 ng each), before addition of 10 mL of MeOH. The vessels were then sealed and placed in a START E microwave oven (Milestone SRL, Sorisole, Italy). The extraction time was set at 10 min: 5 min to reach the temperature set point (70°C) and a 5-min holding time at 70°C. Following filtration on glass fiber cotton, extracts were concentrated to approximately 2 mL. A purification step was performed using ENVI-Carb graphite cartridges (250 mg/6 mL) previously conditioned with 5 mL of MeOH. After sample loading, cartridges were rinsed with 5 mL of MeOH, and the resulting extracts were concentrated and transferred into injection vials as previously mentioned.

PFAS analyses were performed by ultra-high performance liquid chromatography negative electrospray ionization tandem mass spectrometry (HPLC-ESI(-)-MS/MS) with an Agilent 1200 LC coupled to an Agilent 6460 triple quadrupole mass spectrometer, both from Agilent Technologies (Massy, France). For details on chemical analyses, see the supplementary material (**Tables S2-S4**).

2.5. Quality Control

All instrumental blanks remained exempt from analytes and IS. Procedural blanks, performed with 500 mL of Vittel mineral water for water samples and with 10 mL of MeOH for sediment samples, were run every ten samples. In water procedural blanks (n=51), the most recurrent analytes were PFPeA and PFBA (0.15±0.08 and 0.04±0.05 ng, respectively), while in sediment procedural blanks (n=11), PFHxA and PFPeA were systematically detected (0.2±0.5 and 0.2±0.1 ng, respectively) (**Table S5**). When analytes were found in procedural blanks, the method limit of detection (LOD) was calculated as the standard deviation of blanks corrected by the $t_{n-1,95}$ student coefficient, n being the number of blank replicates. Otherwise, the LOD was classically derived from the signal-to-noise ratio (SNR) observed in low-contaminated samples or in spiked matrices. When two transitions were followed (quantitation and confirmation), the transition with the lowest SNR was chosen for LOD calculation. Method detection limits were in the range 0.01–0.27 ng L⁻¹ and 0.001–0.18 ng g⁻¹ dry weight (dw) in the dissolved phase and the sediment, respectively (**Table 1**).

Short-chain carboxylates (C_4 – C_6) were not targeted in the sediment, due to the higher variability of blank levels (PFHxA), recurrent blank contamination (PFPeA), or poor chromatographic performances (PFBA). For spiked water samples, analyte recovery rates were in the range 53–134 % and relative standard deviations remained generally below 15 %, except for short-chain carboxylates. Recoveries were in the 56–86 % range in spiked reference sand samples. In addition to recovery tests, accuracy tests were performed, IS being added at the start of the experiment along with native PFASs. Accuracy rates ranged from 78 to 144 % for 1 ng L⁻¹ spiked Vittel mineral water samples (n=12) and from 86 to 117 % for 0.5 ng g⁻¹ spiked reference sand samples (n=3). The relatively high value (151 %) observed for 6:2 FTSA when quantified against ¹³C-PFOS suggests that this compound may be overestimated in the sediment. Moreover, a strong matrix interference hampered the qualifier peak integration of 6:2 FTSA, which was not quantified in the sediment. For the same reasons, PFBS was not targeted in the sediment matrix. Full details on blank results, instrumental detection limits, LODs, as well as accuracy and recovery rates are available in the SI (**Tables S5-S7**).

2.6. Statistics and GIS

Statistical tests were performed with the R statistical software (R version 2.15.3, R Core Team, 2013). Statistical significance was set at a 0.05 p-value cutoff. Due to the high number of non-detects, functions from the NADA R-package were used to calculate descriptive statistics, differences between groups and correlations (Helsel, 2012; Lee, 2013) (see SI for details). To compare these results with those achieved with substitution techniques, two additional data set were created, in which all data that fell below LOD were classically substituted by 0.5 x LOD and 0 x LOD. In the case of the Kohonen mapping, logarithm transformed PFAS concentrations were used, the self-organizing map (SOM) algorithm being adapted from a program file written by Giraudel and Lek (2001). Quantum GIS 1.8.0 “Lisbona” (QGIS) was used as a geographic information system, and base maps were downloaded from Natural Earth (URL: <<http://www.naturalearthdata.com>>).

3. Results and discussion

3.1. Importance of the statistical treatment of non-detects

Non-detects are trace-level concentrations that are known to fall below an analytical threshold such as the LOD, and are therefore commonly reported as “<LOD”. As such, incorporating non-detects in the estimation of descriptive statistics (e.g., mean, standard deviation, median), differences among groups or correlations may turn out problematic (Helsel, 2006). A common practice consists in replacing all non-detects by a single arbitrary value, usually 0.5 x LOD. However, substitution techniques have no theoretical basis and may result in poor descriptive statistics and correlation estimates (Huston and Juarez-Colunga, 2009; Helsel, 2012).

Alternatives to substitution techniques to determine descriptive statistics include, for instance, Kaplan Meier (KM) and Regression on Order Statistics (robust ROS) approaches. The KM estimator is a non-parametric method, recommended for small sample sizes (< 50 observations) with up to 50 % censoring percentage (Helsel, 2012). In contrast, robust ROS is a parametric method, assuming a lognormal distribution to impute unknown observations prior to computation of summary statistics (Huston and Juarez-Colunga, 2009; Helsel, 2012). Robust ROS allows more flexibility in the size of the data set than does KM, and may provide accurate descriptive statistics up to 80 % censoring percentage (Huston and Juarez-Colunga, 2009). The descriptive statistics presented in **Table 1** were therefore based on the robust ROS estimator. When censoring percentages were higher than 80 %, mean and median were not calculated and were simply reported as “NC” (not calculated). Note that descriptive statistics computed with other statistical treatment for non-detects (0 x LOD, 0.5 x LOD, KM) are provided in the SI.

When examining descriptive statistics, the results obtained with a substitution technique (0.5 x LOD or 0 x LOD) fell close to those obtained with a KM or a ROS treatment of non-detects (**Tables S8-S9**). The 0.5 x LOD substitution method produced a slight upward drift in the determination of the mean ΣPFASs compared to the 0 x LOD method (i.e. 28.6 ng L⁻¹ Vs 28.3 ng L⁻¹). This may seem inconsequential; however, the results might have differed significantly if we had reported higher detection limits.

Obviously, this is of even higher concern as regards the calculation of molecular patterns. The relative abundance is poorly estimated when all non-detects are replaced by a fraction of the compound's detection limit, since an artificial signal which was not really present is added (Helsel, 2006); this can, in turn, lead to misinterpretations. For instance, the 0.5 x LOD substitution technique returned a mean abundance profile of 0.9 % for PFTeDA in the dissolved phase, although this compound was never detected in water (**Table S10**). As a result, relatively high percentages will be found for compounds that are seldom detected, while major compounds will exhibit artificially lower percentages. To illustrate, the mean abundance of L-PFOS in the sediment (**Table S11**) given by the 0.5 x LOD substitution technique fell to 24 % – about half the result obtained by a 0 x LOD substitution method – while the figure for PFDS inflated to an unrealistic 11 %, due to a higher LOD (0.18 ng g⁻¹).

In order to evade the problem of non-detects, it can be decided to consider only a subset of the original data – for example, the 50 % most contaminated sites. Although this information is interesting in its own right, it leads to a loss of information. Clearly, none of the three substitution options discussed above is entirely adequate; however, the 0.5 x LOD substitution method may produce especially poor estimates of mean relative abundances and should therefore be avoided for this purpose. In this work, the robust ROS method was preferred to substitution approaches to estimate descriptive statistics.

3.2. Levels in water and sediment

The most frequently detected compounds in water ($n = 333$) were Br-PFOS and L-PFOS (**Table 1**). The linear and branched isomers of PFOS were detected simultaneously in 82 % of samples, while 89 % of samples showed the presence of either L-PFOS or Br-PFOS. Other recurrent compounds were generally short to medium perfluoroalkyl chain-length compounds such as PFHxA, PFOA or PFHxS, while the detection frequency of C_{10} – C_{13} carboxylates followed an exponential decrease ($R^2 = 0.989$, $p = 0.005$) with increasing perfluoroalkyl chain length. Equally noteworthy was the occurrence of 6:2 FTSA in a substantial number of samples (52 %). On average, Σ PFASs in the dissolved phase ($n = 333$) was 28.2 ng L^{-1} and ranged from $< \text{LOD}$ at some pristine reference sites up to 725 ng L^{-1} in the Ru d'Ancoeuil near the town of Melun. L-PFOS amounted to 5.1 ng L^{-1} on average, a much lower value than the 39 ng L^{-1} reported by Loos et al. (2009) in a survey of 122 European rivers. The levels of other key molecules in the dissolved phase (e.g. PFHxA, PFOA, PFHxS and Br-PFOS) were in the range 2.5 – 4.7 ng L^{-1} on average. Reference sites significantly differed from other sites (e.g., L-PFOS, **Fig.2**), Σ PFASs always remaining below 3.7 ng L^{-1} and the main compound found being PFBA (0.2 ng L^{-1} on average) at such sites. No significant difference could be detected between the other 4 sampling site types (farmland, industrial, poor ecological status and urban), except in the case of L-PFOS (industrial = urban $>$ farmland) and FOSA (urban $>$ farmland). Also note that industrial locations displayed markedly higher levels of PFHxA, PFHxS and PFOS on average (**Fig.S1**).

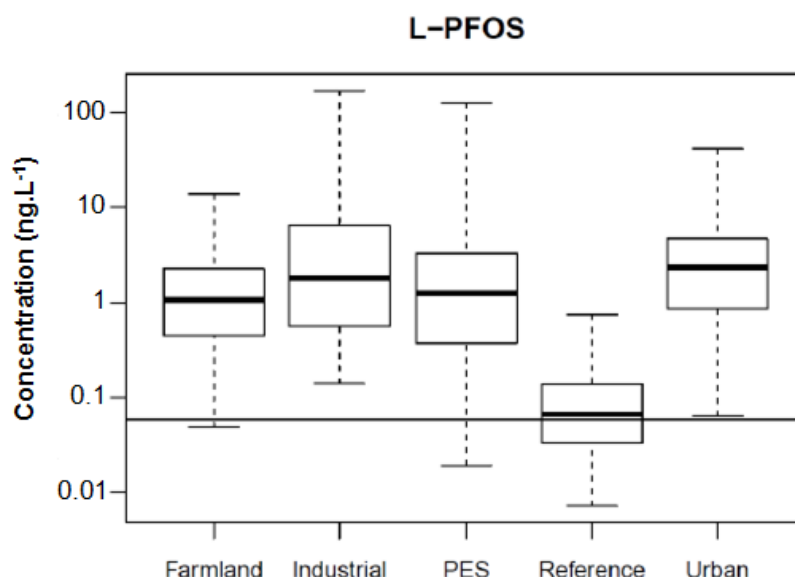


Fig.2. L-PFOS levels in rivers ($n = 315$, dissolved phase) according to sampling site type: farmland, industrial, PES (poor ecological status), reference and urban. The horizontal line represents the censoring threshold.

In sediment samples, L-PFOS and FOSA were often detected (74 and 67 %, respectively), as well as C₁₀–C₁₂ carboxylates (43–47 %). The mean ΣPFASs was 1.8 ng g⁻¹ dw (range: <LOD – 25.2 ng g⁻¹ dw), while individual compounds were generally found in the low ng g⁻¹ range, with a mean value of 0.72 ng g⁻¹ dw reported for L-PFOS, while other relevant compounds (e.g., Br-PFOS, C₁₀–C₁₃ carboxylates, MeFOSAA) remained below 0.2 ng g⁻¹ dw on average (**Table 1**). L-PFOS ranged from <LOD to 16.6 ng g⁻¹ dw, which is consistent with findings by Kwadijk et al. (2010) in the Netherlands (range 0.5–8.7 ng g⁻¹ dw) or by Hloušková et al. (2014) in the Czech Republic (0.2–17.7 ng g⁻¹ dw). However, no clear pattern emerged as regards the influence of sampling site type on PFAS levels in sediments (**Fig.S2**).

Table 1. PFAS occurrence and concentration ranges (min–max) in water and sediment (mean and median values are indicated in the SI).

	Dissolved Phase (n = 333)			Sediment (n = 129)		
	Range (ng L ⁻¹)	Detection limit (ng L ⁻¹)	Detection frequency (%)	Range (ng g ⁻¹ dw)	Detection limit (ng g ⁻¹ dw)	Detection frequency (%)
PFBA	<0.17–11	0.17	49.5	NQ	-	-
PFPeA	<0.27–35	0.27	57.7	NQ	-	-
PFHxA	<0.10–86	0.1	71.5	NQ	-	-
PFHpA	<0.05–16	0.05	70	<0.12–0.37	0.12	7.8
PFOA	<0.08–36	0.08	83.8	<0.11–1.1	0.11	16.3
PFNA	<0.04–30	0.04	65.8	<0.04–0.97	0.04	24.8
PFDA	<0.07–10	0.07	54.7	<0.05–2.4	0.05	45.7
PFUnA	<0.05–1.3	0.05	16.5	<0.01–2.6	0.01	47.3
PFDoA	<0.07–0.94	0.07	3.9	<0.06–1.9	0.06	42.6
PFTTrDA	<0.02–0.29	0.02	0.6	<0.02–5.0	0.02	36.4
PFTeDA	<0.07	0.07	0	<0.02–1.3	0.02	32.6
PFBS	<0.02–29	0.02	65.2	NQ	-	-
PFHxS	<0.02–217	0.02	81.1	<0.02–0.63	0.02	7
PFHpS	<0.02–17	0.02	41.7	<0.03–0.15	0.03	0.8
Br-PFOS	<0.01–197	0.01	85.9	<0.04–2.7	0.04	41.1
L-PFOS	<0.06–173	0.06	84.7	<0.01–17	0.01	74.4
PFDS	<0.04–0.21	0.04	1.5	<0.18–0.20	0.18	1.6
MeFOSAA	NA	NA	NA	<0.01–7.3	0.01	22.5
EtFOSAA	NA	NA	NA	<0.01–2.3	0.01	10.1
FOSA	<0.06–0.73	0.06	20.1	<0.003–0.82	0.003	67.4
MeFOSA	<0.09–0.46	0.09	0.9	<0.01–0.067	0.01	1.6
EtFOSA	<0.06–0.81	0.06	1.2	<0.001–0.033	0.001	3.9
6:2 FTSA	<0.05–95	0.05	51.7	NQ	-	-
ΣPFASs	<LOD–725			<LOD–25)		

dw: dry weight; NQ: analyte not targeted; < LOD: below detection limit; NA: not available.

3.3. Molecular patterns and spatial distribution

In order to highlight similarities between locations, PFAS concentrations were analyzed with the help of unsupervised artificial neural networks, the most salient findings being described in this subsection.

At national scale, PFOS was found to be the prevalent compound, accounting for 29 % of Σ PFASs on average in the dissolved phase, and for 47 % in the sediment. L-PFOS was the main isomer found in the sediment (88 % of total PFOS), whereas L-PFOS and Br-PFOS were found in equal proportions in water (e.g., 48 % for L-PFOS), which agrees well with the distribution of PFOS isomers in hydrosystems (e.g., Houde et al., 2008). On average, Br-PFOS and L-PFOS were the dominant congeners in the dissolved phase, followed by PFOA, PFHxA and PFHxS (**Table S10**). Short-chain congeners such as PFBA, PFPeA, or PFBS had a somewhat lower impact on the PFAS profile, each accounting for about 6–7 % of Σ PFASs.

Carboxylates and sulfonates were equally dominant: Σ PFCA represented on average 50 % and Σ PFSA 47 % of the PFAS pattern. However, considerable variations were observed between individual sampling sites, as summarized in the 12 x 15 Kohonen SOM (**Fig.3**). While reference locations were usually grouped in the lower left-hand corner, the color gradient for each compound differed from one compound to the other, as shown in the corresponding component planes (**Fig.S3**). In addition, sites showing similar PFAS patterns were projected on neighboring cells of the hexagonal lattice. For instance, three peculiar locations (#PE03, #312 and #207) were associated in the same bright-green cluster, due to relatively high 6:2 FTSA levels. Thus, at the dam of Saint-Etienne Cantalès (#PE03, Σ PFASs = 95 ng L⁻¹), 6:2 FTSA accounted for 72 % of the PFAS profile, while site #312 on the River Seine (Σ PFASs = 44–87 ng L⁻¹) also exhibited high 6:2 FTSA relative abundance (32–52 %) probably due to the impact of both the Paris conurbation and a perfluorochemical plant located in the River Oise basin. Interestingly, a very similar pattern to that of #312 was observed on a different watershed, in the cross-border town of Petite Rosselle near Germany (#207, Σ PFASs = 54–81 ng L⁻¹), where 6:2 FTSA accounted for 26–40 %. Before flowing into the Rosselle, the Merle tributary crosses a major industrial area at Carling (10 km southwest of #207), which may explain the distinctive PFAS profile. Another point worth mentioning was the pink cluster which exclusively comprised sites from the River Rhône basin (#600 series), corresponding to high levels of short to medium chain-length carboxylates. This is consistent with Loos et al. (2009) who observed relatively high values for PFOA (116 ng L⁻¹) in the River Rhône compared to other major European rivers (e.g., 25 ng L⁻¹ for the Danube, Austria). For instance, downstream of Lyon (#614), Σ PFASs observed in the first campaign was 60 ng L⁻¹, of which 50 % was imputed to a single compound (PFNA), 17 % to PFHxA and 8 % to PFOA. In the next campaign, however, the PFHxA contribution increased dramatically to 77 % (Σ PFASs = 67 ng L⁻¹), while PFNA dropped to 1 %. L-PFOS, in contrast, remained steadily at around 5 % in both sampling campaigns. While PFOS levels are likely generated by diffuse sources in this watershed, the high variability in PFHxA and PFNA levels might be partly attributed to the activities of a fluorochemical plant synthesizing polyvinylidene fluoride (PVDF), located about 15 km upstream of this location. Similarly, near the mouth of the River Rhône (#631), Σ PFASs fluctuated from 31 to 97 ng L⁻¹, PFHxA accounting respectively for 47–88 % of Σ PFASs, thus corroborating the particular PFAS signature of the River Rhône (Dauchy et al., 2012).

In sediments, L-PFOS dominated the mean profile, accounting for 41 % of Σ PFASs (**Table S11**). This remained true when examining only the top 50 % most contaminated sediments: L-PFOS still accounted for 40 % of Σ PFASs, followed by PFDoA (11 %), Br-PFOS (7 %), several long-chain carboxylates such as PFDA, PFUnA, PFTeDA and PFTrDA (range 5–7 %), but also MeFOSAA (5 %).

The lower right-hand side of the SOM (dark green cluster) grouped sampling sites with high levels of PFOS precursors (**Fig.S4-S5**). In the river Risle (#305, Σ PFASs = 11.4 ng g⁻¹ dw), PFOS precursors accounted for nearly 75 % of the molecular pattern, with relatively elevated MeFOSAA and EtFOSAA levels (7.3 and 0.7 ng g⁻¹ dw, respectively). The reasons for this peculiar profile are still speculative, the only facilities that could be identified near the sampling sites included a WWTP, a paper manufacturing plant and a plant processing zirconium alloys for nuclear applications (in which PFASs may be used for metal plating purposes).

Sediments with high PFOS levels were found in the dark blue cluster. The most polluted sediment observed corresponded to an artificial lake near Bordeaux (#001) where Σ PFASs reached 25.2 ng g⁻¹ dw, of which 77 % was due to PFOS. EtFOSAA, FOSA and MeFOSAA also contributed to the PFAS profile, albeit to a lesser extent (3–9 %). In contrast, sediments with the highest PFCA contributions were grouped in the pink cluster. For instance, in sediments downstream from Lyon (#614, Σ PFASs = 11.5 ng g⁻¹ dw), carboxylates represented a remarkable 99 % of Σ PFASs, PFTrDA being the essential congener (44 %) followed by PFDA and PFDoA (20 and 10 %, respectively).

Thus, given the considerable size of our dataset, the Kohonen mapping proved to be a useful tool to highlight differences of PFAS levels and molecular patterns between locations.

3.4. Correlations and partitioning behavior

L-PFOS and Br-PFOS were strongly correlated in the dissolved phase (*cenken* regression: slope = 1.12, $r = 0.86$, $p < 0.001$, $n = 333$) (**Fig.S6**). This held true when excluding lakes from the regression, and high correlation coefficients were reported for each type of sampling site ($r = 0.85$ – 0.89) except for reference locations where the correlation was weaker ($r = 0.39$). Other relevant correlations included Br-PFOS/PFHxS ($r = 0.82$), L-PFOS/PFHxS ($r = 0.77$), or L-PFOS/PFOA ($r = 0.71$) (**Table S12**). In riverine sediments ($n = 111$) (**Table S13**), L-PFOS best correlated with one of its precursors, FOSA (slope = 24.5, $r = 0.59$, $p < 0.001$), whereas weaker correlations were found with C₁₀–C₁₄ carboxylates ($r = 0.37$ – 0.46). Long-chain carboxylates were generally correlated with each other – e.g.: PFDA/PFUnA ($r = 0.45$), PFUnA/PFDoA ($r = 0.45$), PFDoA/PFTeDA ($r = 0.50$), pointing to similar sources or fate.

The standard procedure to determine the sediment-water partitioning coefficient (K_d) is to calculate the ratio of the concentration in the sediment (ng kg⁻¹ dw) to the concentration in the dissolved phase (ng L⁻¹), provided that the compound is detected in both compartments (“*matching pairs*” method). The sediment-water partitioning coefficient normalized to carbon content (K_{OC}) is then derived from the

following equation: $K_{OC} = K_d \times 100/f_{OC}$ where f_{OC} is the sediment organic carbon fraction (range: <0.4 %–22.9 %). This procedure was applied to our dataset and, in addition, K_d and K_{OC} were also estimated by a regression approach including non-detect handling, the calculation procedure being fully described in the SI.

Table 2. Average PFAS partitioning coefficients log K_d and log K_{OC} obtained from 2 methods: *i*) calculation based on matching pairs only (the analyte level in the dissolved phase and in the sediment must be above the LOD); and *ii*) regression with the *cenken* function from NADA.

	Matching pairs		Cenken regression	
	Log K_d	Log K_{OC}	Log K_d	Log K_{OC}
PFHpA	2.2 ± 0.5	3.2 ± 0.4	2.2	3.3
PFOA	1.9 ± 0.6	3.0 ± 0.6	1.8	2.9
PFNA	2.5 ± 0.5	3.6 ± 0.5	2.2	3.3
PFDA	2.6 ± 0.6	3.7 ± 0.6	2.2	3.3
PFUnA	3.0 ± 0.6	4.1 ± 0.6	2.8	3.9
PFDoA	2.7 ± 0.6	3.8 ± 0.6	2.6	3.6
PFTTrDA	4.1	5.2	NC*	NC
PFHxS	1.8 ± 0.6	2.9 ± 0.6	1.7	2.5
PFHpS	2.6 ± 0.3	3.7 ± 0.3	3	4.1
Br-PFOS	1.9 ± 0.7	3.0 ± 0.7	1.8	2.8
L-PFOS	2.3 ± 0.8	3.4 ± 0.8	1.9	2.9
FOSA	2.4 ± 0.6	3.5 ± 0.5	2.2	3.3

*NC: regression not performed (n=1).

Average Log K_d and Log K_{OC} calculated from the two approaches were in good agreement, the values returned by *cenken* generally falling within the confidence range of *matching pairs* (Table 2). The Log K_{OC} of C₇–C₁₂ carboxylates fell in the range 2.9–3.9, consistent with findings by Kwadijk et al. (2010) in the Netherlands for C₇–C₉ carboxylates (range: 2.6–3.7). The *cenken* regression yielded a 2.9 Log K_{OC} value for L-PFOS and PFOA, in line with the 3.0 and 2.8 average Log K_{OC} values proposed by Zareitalabad et al. (2013).

The influence of f_{OC} on PFAS levels in the sediment was also investigated. The levels of PFDA, PFUnA and PFTTrDA in the sediment positively correlated with f_{OC} , indicating that f_{OC} might be a major contributing factor of PFAS sorption onto sediments. For these carboxylates, the slope of the *cenken* regression ranged from 1.6 to 2.3, lower than that of sulfonates such as Br-PFOS (3.8) and L-PFOS (7.7) but higher than that of FOSA (0.5) (SI Table S14). However, Kendall's τ remained low (0.06–0.27), while the highest significance was for FOSA and L-PFOS ($p < 0.0001$), in excellent agreement with Ahrens et al. (2009). The same tendency was found when investigating the correlation between concentrations in the sediment and the fine fraction (<63 μ m) of the sediment (Table S15), which suggests that, as observed for other organic pollutants (Karickhoff et al., 1979; Lee et al., 2006), grain size is another controlling factor of PFAS sorption. The combined influence of f_{OC} (X_1) and silt content (X_2) on PFAS concentrations in the sediment (Y) was approached by multiple regression, using the following model: $\ln(1 + Y) = \alpha + \beta \cdot X_1 + \gamma \cdot X_2$ (see SI pages 529–530). The model was significant for

Br-PFOS, L-PFOS and FOSA. Only in the case of FOSA did we find significant coefficients for both explanatory variables (**Table S16**). Overall, these results suggest that f_{OC} is a more important controlling factor than the fine fraction content as regards the sedimentary accumulation of PFASs.

It has been previously suggested to plot K_d as a function of f_{OC} for the purpose of normalizing PFAS levels in the sediment to those in the dissolved phase (e.g., Pan et al., 2014). In our study, this approach was not implemented as such since it was not feasible to define a censoring threshold for individual K_d values. Hence, it was proposed instead to consider the PFAS levels in the dissolved phase as an additional explanatory variable. The combined influence of f_{OC} (X_1), silt content (X_2) and PFAS concentrations in the dissolved phase (X_3) on PFAS concentrations in the sediment (Y) was therefore approached by multiple regression. The model was significant for PFDA, Br-PFOS, L-PFOS and FOSA; for Br-PFOS and FOSA, significant coefficients were reported for all explanatory variables while coefficients were either significant or near-significant for PFDA and L-PFOS (**Table S17**). Dissolved PFAS concentration did not seem more preponderant than the other two investigated factors (**Table S17**). Since rivers are dynamic systems, non-equilibrium conditions between overlying water and bed sediment may reasonably be expected at numerous sampling sites; this may partly explain the latter observation. In addition, geochemical parameters not considered in this study may also have influenced PFAS sorption (e.g. pH or Ca^{2+}) (Higgins and Luthy, 2006).

4. Conclusions

The present study examined the spatial distribution of PFASs in mainland France surface water bodies. Reference locations exhibited the lowest dissolved PFAS levels and the most polluted sites were generally found near large urban areas or industrial sites. A Kohonen mapping provided evidence for the existence of distinctive features, in some instances at watershed scale (e.g., predominance of carboxylates in the Rhône river), and in other cases between distant sites. The exceptionally large data set resulting from this national overarching campaign, combined with specific statistical treatments for non-detects, allowed for the generation of robust statistics when investigating correlations between compounds, partitioning coefficients, as well as the relative influence of sediment characteristics (i.e. organic carbon and silt content) on PFAS sorption. Our results also suggest that f_{OC} is a more important controlling factor than the fine fraction content as regards the sedimentary accumulation of PFASs.

Acknowledgments

The authors thank the French Ministry of Ecology, the French National Agency for Water and Aquatic Environments (ONEMA) as well as River Basin agencies for their financial support. This study has been carried out with financial support from the French National Research Agency (ANR) in the frame

of the “Investments for the future” Program, within the Cluster of Excellence COTE (ANR-10-LABX-45); Idex Bordeaux (ANR-10-IDEX-03 -02) provided the PhD grant allocated to G. Munoz. The authors also acknowledge funding from the INTERREG ORQUE SUDOE project (SOE3/P2/F591), as well as the Aquitaine Regional Council and the European Union (CPER A2E project). Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund (FEDER).

References

- Ahrens, L., Yamashita, N., Yeung, L.W.Y., Taniyasu, S., Horii, Y., Lam, P.K.S., Ebinghaus, R., **2009**. Partitioning Behavior of per- and Polyfluoroalkyl Compounds between Pore Water and Sediment in Two Sediment Cores from Tokyo Bay, Japan. *Environmental Science & Technology* 43, 6969–75.
- Ahrens, L., Bundschuh, M., **2014**. Fate and effects of poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: a review. *Environmental Toxicology and Chemistry* 33, 1921–1929.
- Antignac, J.P., Veyrand, B., Kadar, H., Marchand, P., Oleko, A., Le Bizec, B., Vandentorren, S., **2013**. Occurrence of Perfluorinated Alkylated Substances in Breast Milk of French Women and Relation with Socio-Demographical and Clinical Parameters: Results of the ELFE Pilot Study. *Chemosphere* 91, 802–808.
- Boiteux, V., Dauchy, X., Rosin, C., Munoz, J.F., **2012**. National Screening Study on 10 Perfluorinated Compounds in Raw and Treated Tap Water in France. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 63, 1–12.
- Buhrke, T., Kibellus, A., Lampen, A., **2013**. In Vitro Toxicological Characterization of Perfluorinated Carboxylic Acids with Different Carbon Chain Lengths. *Toxicology Letters* 218, 97–104.
- Clara, M., Gans, O., Weiss, S., Sanz-Escribano, D., Scharf, S. and Scheffknecht, C., **2009**. Perfluorinated alkylated substances in the aquatic environment: An Austrian case study. *Water Research* 43, 4760–4768.
- Dauchy, X., Boiteux, V., Rosin, C., Munoz, J.F., **2012**. Relationship Between Industrial Discharges and Contamination of Raw Water Resources by Perfluorinated Compounds. Part I: Case Study of a Fluoropolymer Manufacturing Plant. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 89, 525–530.
- De Solla, S.R., De Silva, O., Letcher, R.J., **2012**. Highly Elevated Levels of Perfluorooctane Sulfonate and Other Perfluorinated Acids Found in Biota and Surface Water Downstream of an International Airport, Hamilton, Ontario, Canada. *Environment International* 39, 19–26.
- European Council, **2000**. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for community action in the field of water policy. OJL.327, 22 December 2000, 1–73.
- Giraudel, J.L., Lek, S., **2001**. A comparison of self-organizing map algorithm and some conventional statistical methods for ecological community ordination. *Ecological Modelling* 146, 329–339.
- Helsel, D., **2006**. Fabricating Data: How Substituting Values for Nondetects Can Ruin Results, and What Can Be Done about It. *Chemosphere* 65, 2434–2439.

Helsel, D., **2012**. "Statistics for Censored Environmental Data Using Minitab and R", Second Edition, Wiley.

Higgins, C.P., Luthy, R.G., **2006**. Sorption of Perfluorinated Surfactants on Sediments. *Environmental Science and Technology* 40, 7251-7256.

Hloušková, V., Lanková, D., Kalachová, K., Hrádková, P., Poustka, J., Hajšlová, J., Pulkrabová, J., **2014**. Brominated flame retardants and perfluoroalkyl substances in sediments from the Czech aquatic ecosystem. *Science of the Total Environment* 470-471, 407-416.

Houde, M., Czub, G., Small, J.M., Backus, S., Wang, X., Alaei, M., Muir, D.C.G., **2008**. Fractionation and Bioaccumulation of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) Isomers in a Lake Ontario Food Web. *Environmental Science & Technology* 42, 9397-403.

Houde, M., De Silva, A.O., Muir, D.C.G., Letcher, R.J., **2011**. Monitoring of Perfluorinated Compounds in Aquatic Biota : An Updated Review. *Environmental Science & Technology* 45, 7962-7973.

Huston, C., Juarez-Colunga, E., **2009**. Guidelines for computing summary statistics for data-sets containing non-detects. <http://bvcentre.ca/files/research_reports/08-03GuidanceDocument.pdf>

Jaspers, V.L.B., Herzke, D., Eulaers, I., Gillespie, B.W., Eens, M., **2013**. Perfluoroalkyl Substances in Soft Tissues and Tail Feathers of Belgian Barn Owls (*Tyto Alba*) Using Statistical Methods for Left-Censored Data to Handle Non-Detects. *Environment International* 52, 9-16.

Kannan, K., **2011**. Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances: Current and Future Perspectives. *Environmental Chemistry* 8, 333-338.

Karickhoff, S.W., Brown, D.S., Scott, T.A., **1979**. Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water Research* 13, 241-248.

Kwadijk, C.J.A.F., Korytár, P., Koelmans, A.A., 2010. Distribution of Perfluorinated Compounds in Aquatic Systems in the Netherlands. *Environmental Science & Technology* 44, 3746-3751.

Labadie, P., Chevreuil, M., **2011a**. Partitioning Behaviour of Perfluorinated Alkyl Contaminants between Water, Sediment and Fish in the Orge River (nearby Paris, France). *Environmental Pollution* 159, 391-397.

Labadie, P., Chevreuil, M., **2011b**. Biogeochemical Dynamics of Perfluorinated Alkyl Acids and Sulfonates in the River Seine (Paris, France) under Contrasting Hydrological Conditions. *Environmental Pollution* 159, 3634-3639.

Lam, N.H., Cho, C.R., Lee, J.S., Soh, H.Y., Lee, B.C., Lee, J.A., Tatarozako, N., Sasaki, K., Saito, N., Iwabuchi, K., Kannan, K., Cho, H.S., **2014**. Perfluorinated alkyl substances in water, sediment, plankton and fish from Korean rivers and lakes: A nationwide survey. *Science of the Total Environment* 491-492, 154-162.

Lau, C., Anitole, K., Hodes, C., Lai, D., Pfahles-Hutchens, A., Seed, J., **2007**. Perfluoroalkyl Acids: A Review of Monitoring and Toxicological Findings. *Toxicological Sciences* 99, 366-394.

Lee, L., **2013**. NADA: Nondetects And Data Analysis for environmental data. R package version 1.5-5.

Lee, S.J., Kim, J.H., Chang, Y.S., Moon, M.H., **2006**. Characterization of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in different particle size fractions of marine sediments. *Environmental Pollution* 144, 554-561.

- Loos, R.; Gawlik, B.M.; Locoro, G.; Rimaviciute, E.; Contini, S.; Bidoglio, G., **2009**. EU-wide Survey of Polar Organic Persistent Pollutants in European River Waters. *Environmental Pollution* 157, 561–568.
- McLachlan, M.S, Holmstrom, K.E., Reth, M., Berger, U., **2007**. Riverine Discharge of Perfluorinated Carboxylates from the European Continent. *Environmental Science & Technology* 41, 7260–7265.
- Munsch, C., Marchand, P., Venisseau, A., Veyrand, B., Zendong, Z., **2013**. Levels and Trends of the Emerging Contaminants HBCDs (hexabromocyclododecanes) and PFCs (perfluorinated Compounds) in Marine Shellfish along French Coasts. *Chemosphere* 91, 233–240.
- Olsen, G.W, Burris, J.M., Ehresman, D.J., Froehlich, J.W., Seacat, A.M., Butenhoff, J.L., Zobel, L.R., **2007**. Half-Life of Serum Elimination of Perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and Perfluorooctanoate in Retired Fluorochemical Production Workers. *Environmental Health Perspectives* 115, 1298–1305.
- Pan, G., Zhou, Q., Luan, X., Fu, Q.S., **2014**. Distribution of perfluorinated compounds in Lake Taihu (China): Impact to human health and water standards. *Science of The Total Environment* 487, 778–784.
- Pistocchi, A., Loos, R., **2009**. A Map of European Emissions and Concentrations of PFOS and PFOA. *Environmental Science & Technology* 43, 9237–9244.
- Prevedouros, K., Cousins, I.T., Buck, R.C., Korzeniowski, S.H., **2006**. Sources, Fate and Transport of Perfluorocarboxylates. *Environmental Science & Technology* 40, 32–44.
- R Core Team, **2013**. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <<http://www.R-project.org>>.
- Rigét, F., Bossi, R., Sonne, C., Vorkamp, K., Dietz, R., **2013**. Trends of perfluorochemicals in Greenland ringed seals and polar bears: Indications of shifts to decreasing trends. *Chemosphere* 93, 1607–1614.
- Simcik, M.F., Dorweiler, K.J., **2005**. Ratio of Perfluorochemical Concentrations as a Tracer of Atmospheric Deposition to Surface Waters. *Environmental Science & Technology* 39, 8678–8683.
- Wolf, C.J, Schmid, J.E., Lau, C., Abbott, B.D., **2012**. Activation of Mouse and Human Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Alpha (PPAR α) by Perfluoroalkyl Acids (PFAAs): Further Investigation of C4-C12 Compounds. *Reproductive Toxicology* 33, 546–551.
- Zareitalabad, P., Siemens, J., Hamer, M., Amelung, W., **2013**. Perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) in surface waters, sediments, soils and wastewater – A review on concentrations and distribution coefficients. *Chemosphere* 91, 725–732.

IV.2. Occurrence et devenir des PFAS dans les eaux souterraines, les eaux de surface et les sédiments en zone tropicale – Application aux départements français d’Outre-Mer

Résumé

L’occurrence, les niveaux et les profils moléculaires de PFAS dans les eaux de surface ($n = 75$), les eaux souterraines ($n = 80$) et les sédiments ($n = 15$) sont renseignés pour la première fois dans les cinq Départements français d’Outre-Mer (DOM). Comme dans le cas du chapitre précédent, les statistiques descriptives et les corrélations entre composés ont été évaluées à l’aide de traitements statistiques spécifiques permettant de prendre en compte les données inférieures aux limites de détection (valeurs $< \text{LOD}$). Les niveaux de PFAS dans les eaux de surface (à savoir, médiane de $\Sigma \text{PFAS} = 1,8 \text{ ng L}^{-1}$) sont environ quatre fois moins élevés que ceux typiquement observés en France métropolitaine (Cf. chapitre **IV.1**). Dans les eaux souterraines, le somme des PFAS s’échelonne de $< \text{LOD}$ à 638 ng L^{-1} (médiane = $0,56 \text{ ng L}^{-1}$), les valeurs maximales étant généralement rencontrées près des zones industrielles (ex : centrales de production d’électricité, raffineries) et/ou urbaines. Le perfluorooctane sulfonate (PFOS) et le perfluorooctanoate (PFOA) sont les composés majoritaires du profil de PFAS dans les eaux de surface, tandis que dans les eaux souterraines, les PFAS de plus courte chaîne perfluoroalkyle prédominent, ce qui atteste de la plus grande mobilité de ces derniers – et, par voie de conséquence, de leur plus grand potentiel de transfert par infiltration. Des concentrations relativement élevées (jusqu’à 150 ng L^{-1}) de 6:2 fluorotélomère sulfonate (6:2 FTSA) ont été retrouvées dans les eaux souterraines situées à proximité de sites industriels, ce qui peut indiquer l’existence d’activités de lutte contre le feu impliquant la dispersion de mousses extinctrices de type AFFF sur ces sites.

Occurrence and fate of poly and perfluoroalkyl substances (PFASs) in groundwater, surface water, and sediments from tropical environments: a case-study in Overseas France

Gabriel Munoz^a, Pierre Labadie^b, Fabrizio Botta^c, François Lestremieu^c, Benjamin Lopez^d, Emmanuel Geneste^a, Patrick Pardon^a, Marie-Hélène Dévier^a and Hélène Budzinski^{b,*}

^a: Université de Bordeaux, EPOC, UMR 5805, LPTC, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France.

^b: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France.

^c: INERIS, Parc Technologique Alata, BP2, 60550 Verneuil-en-Halatte, France.

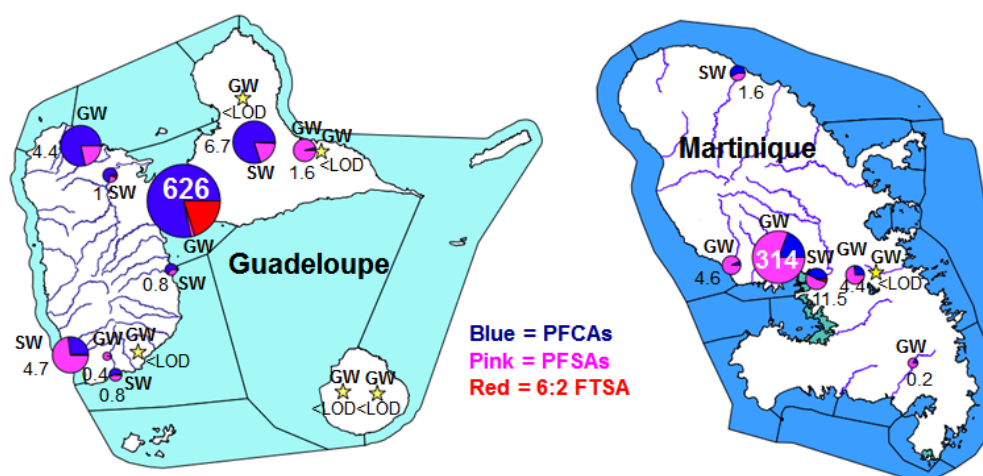
^d: BRGM, 3 avenue Claude Guillemin, BP 36009, 45060 Orléans Cedex 2, France.

*Corresponding author. Contact: helene.budzinski@u-bordeaux.fr

To be submitted to

Science of the Total Environment

Graphical abstract



Average Σ PFASs (ng L⁻¹) and composition profile in Overseas France, illustrated for selected Guadeloupe and Martinique surface water (SW) and groundwater (GW) sampling sites

Highlights

- PFAS spatial distribution was investigated in tropical areas (Overseas France).
- Median Σ PFASs was 1.8 ng L⁻¹ in surface water and 0.56 ng L⁻¹ in groundwater.
- PFOS and PFOA prevailed in surface water Vs PFBS, PFHxS and PFHxA in groundwater.
- PFAS hot spots were found in groundwater at 3 industrial sites: Σ PFASs > 250 ng L⁻¹.
- High 6:2 FTSA, PFBA, PFPeA and PFHxA levels were observed at such sites.
- The repeated use of firefighting foams may partly explain the latter observation.

Abstract

The occurrence and spatial distribution of a broad range of poly and perfluoroalkyl substances (PFASs) in surface water ($n = 75$), groundwater ($n = 80$) and surficial sediment ($n = 15$) were investigated for the first time in the tropical areas constituted by the French Overseas Territories (French Guiana, Guadeloupe, Martinique, Mayotte and Reunion). Descriptive statistics and correlations between PFASs were evaluated through the use of specific statistical treatments to handle data below detection limits ("non-detects"). Levels in surface waters (Σ PFASs: median = 1.8 ng L^{-1} ; range < LOD– 77 ng L^{-1}) were about 4 times lower than those typically observed in mainland France. In groundwater, Σ PFASs was in the range < LOD– 638 ng L^{-1} (median = 0.56 ng L^{-1}), with maximum concentrations reported near industrial or urban areas. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) dominated the profile in surface water, while shorter-chain compounds prevailed in groundwater, highlighting their higher transfer potential through infiltration processes. High 6:2 fluorotelomer sulfonate (6:2 FTSA) levels in groundwater were found near several industrial sampling locations, which may be related to the existence of firefighting training activities at these sites.

Keywords

Polyfluoroalkyl substances (PFASs) – Fluorotelomer sulfonate – Groundwater – Surface water – French Overseas – Non-detects

1. Introduction

Poly and perfluoroalkyl substances (PFASs) are highly-fluorinated surfactants that have been used in a variety of formulations and consumer products, including textiles, food packagings, firefighting foams, and hydraulic fluids for aircrafts, as well as in industrial applications such as electronics and fluoropolymer manufacturing (Buck et al., 2011). About a decade ago, the global extent of perfluorooctane sulfonate (PFOS) occurrence in biota was revealed (Giesy and Kannan, 2001), spurring research interest in the monitoring of this analyte and related compounds in all environmental compartments, including human tissues, blood or breast milk (Hansen et al., 2001; Olsen et al., 2003; Inoue et al., 2004). Results from various lines of evidence suggested hepatic and developmental toxicity for some perfluoroalkyl acids (e.g., Kennedy, 1987; Lau et al., 2004; Lau et al., 2007), which caused further turmoil in the science community and led to the amendment of the Stockholm Convention in 2009 (UNEP-POPS-COP.4-SC-4-17), revised to include PFOS, its salts, and perfluorooctane sulfonyl fluoride under the list of persistent organic pollutants. More recently, the watch list of priority substances under the European Union Water Framework Directive (2000/60/EC) was also extended to include PFOS and its derivatives (2013/39/EU). The use of PFOS is now restricted to a limited number of applications, and major manufacturers in the world are believed to have shifted to shorter-chain alternatives or precursors (Ahrens and Bundschuh, 2014).

To date, several studies have examined PFAS surface water contamination at large spatial scale, including watershed scale (Möller et al., 2010; Campo et al., 2015), nationwide scale (Clara et al., 2009; Kwadijk et al., 2010; Lam et al., 2014; Munoz et al., 2015; Valsecchi et al., 2015), or continent-wide scale (Loos et al., 2009; Gewurtz et al., 2013). In contrast, PFAS groundwater contamination at large spatial scale has been seldom investigated (Loos et al., 2010; Lopez et al., 2015). To our knowledge, extensive surveys have essentially focused on temperate and colder northern latitudes, but none has yet investigated tropical environments. The present work was undertaken under the framework of an overarching campaign supervised by ONEMA (French National Agency for Water and Aquatic Environments). This campaign aimed at investigating the occurrence along with the spatial and temporal dynamics of selected contaminants of emerging concern in mainland France and Overseas territories located in the intertropical zone (see also Vulliet et al., 2014a,b; Cruz et al., personal communication). The data on PFAS occurrence in mainland France have been presented in a companion paper (Munoz et al., 2015), and the present work focuses on French Overseas Territories.

Only a few surveys have hitherto addressed pollution from organic contaminants in Overseas France. Although a water quality monitoring network was launched in 1993, only pesticides have been regularly investigated since 1999, and other organic micropollutants since 2006 (Bocquené and Franco, 2005; Cabidoche et al., 2008; Coat et al., 2011; Ramdine et al., 2012; Vulliet et al., 2014b). Therefore, critical knowledge gaps still remain as regards the environmental fate of organic pollutants in these areas. With the exception of French Guiana, French Overseas Departments are characterized by peculiar hydrodynamics, with small-scale basins generally comprised of perennial and intermittent

rivers, and soils often characterized by karstic or volcanic geological nature, wherein infiltration processes from rainfall or surface water may readily occur (Charlier et al., 2011; Lloret et al., 2011). In addition, although some legacy organic contaminants have been investigated (e.g.: pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons), little is still known about the occurrence of contaminants of emerging concern such as PFASs. Boiteux et al. (2012) provided preliminary results on PFAS levels in French Overseas Departments, no sample being found to exceed the reported limit of quantification (4 ng L⁻¹). A wider range of key PFAS families were targeted in the present survey, including perfluoroalkyl carboxylates (PFCAs), sulfonates (PFSA), sulfonamides, and sulfonamide acetic acids, as well as one fluorotelomer sulfonate. In addition to surface water and watercourse sediment samples, an original contribution of this work was the determination of PFAS levels and patterns in a large number of groundwater samples (n = 80), providing further insight into PFAS transfer from surface to groundwater, thereby contributing to a better understanding of their environmental fate.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals and standards

Analyte acronyms and corresponding chemical structures are supplied elsewhere (Munoz et al., 2015). Solutions of native PFASs had chemical purities greater than 98 % for individual compounds and were all acquired from Wellington Laboratories (BCP Instruments, Irigny, France). Diluted working solutions were prepared in methanol (MeOH) and stored at -18 °C. Note that, in this paper, “PFOS” refers to the sum of linear and branched isomers, while the linear isomer is coined as “L-PFOS”. Given that no standard was available for PFOS branched isomers (henceforth referred to as Br-PFOS), the concentrations were calculated from the calibration curve used for L-PFOS. Mass-labeled internal standards (ISs) were all purchased from Wellington Laboratories (chemical purity > 98 % and isotopic purity > 99 %). Correspondence between analyte and internal standard is supplied elsewhere (Munoz et al., 2015).

HPLC-grade ethanol (EtOH) was from Scharlau (ICS, Gradignan, France), while MeOH and acetonitrile (ACN) were from J.T. Baker (Atlantic Labo, Bruges, France). Ultrapure water was obtained using a Millipore Elix 10 system fitted with an EDS Pak polisher, and Vittel water was used as a mineral water matrix for solid phase extraction (SPE) procedural blanks. Nitrogen gas (99.999 %) was from Linde (St Priest, France). Strata X-AW cartridges (200 mg/6 mL) were supplied by Phenomenex (Le Pecq, France). SPE vacuum manifold, Supelclean ENVI-Carb cartridges (0.25 g/6 mL), ammonium hydroxide (NH₄OH) (28.0-30.0 % NH₃ basis in water) and ammonium acetate (CH₃COONH₄) (Fluka) for HPLC (≥ 99.0 %) were obtained from Sigma-Aldrich (St Quentin Fallavier, France). Whatman GF/F glass microfiber filters were from VWR International (Fontenay Sous Bois, France).

2.2. Study areas and sampling strategy

Among the five French Overseas Departments, Guadeloupe, Martinique, Mayotte, and Reunion are deemed as hot spots of land and marine biodiversity, making tourism one of their chief income sources (Schleupner, 2008). Nevertheless, these islands are densely populated areas (e.g., 350 inhabitants/km² in Martinique, approximately 3 times that of mainland France) wherein intensive agriculture and fast urban development have occurred (Audru et al., 2010; Doelsch et al., 2006). In the specific case of French Guiana, due to the vast extent of territory and the low population density (< 2 inhabitants/km²), contamination is likely to be more unevenly distributed, concentrating at specific locations (e.g., Cayenne city, with a population density of 2400 inhabitants/km²).

Located between the Caribbean Sea and the North Atlantic Ocean, Guadeloupe and Martinique are two neighboring volcanic islands comprised in the Lesser Antilles arc (Leeward Islands), while 1500 km further South, French Guiana (Guyane) lies at the northeastern tip of the South American continent (see **Fig.S1** of the Supplementary Information (SI)). Reunion and Mayotte are small volcanic islands standing in the South Indian Ocean on either side of Madagascar (SI **Fig.S1**). Warm tropical conditions are observed in the 4 overseas islands, with abundant precipitations on the flanks of the volcanoes (e.g., Basse-Terre, Guadeloupe) promoting a dense hydrographic network (Lloret et al., 2011). Tropical storms and hurricanes may affect these territories (except French Guiana whose close location to the equator renders cyclonic formation unlikely), producing flash floods and coming along with the remobilization of sediments and contaminants (Lloret et al., 2011).

The sampling scheme was repeated over time, lending greater reliability to comments on levels and profiles. Surface waters were collected during three successive campaigns (April–May, July–September, and November–December 2012) at 25 sampling sites, for an overall number of 75 samples. Groundwater samples (n = 80) were taken through two successive campaigns (April–June 2012 and September 2012–January 2013) at 40 sampling sites. The spatial distribution of sampling sites is displayed in **Fig.1**, and full details on sampling site names are enclosed in the supplementary material (**Tables S1-S2**). Immediately after sampling, 1 L high density polyethylene (HDPE) bottles were stored in a cooling box (5 ± 3 °C) and shipped to the laboratory within 48 hours. Sediments (n=15) were collected in a single campaign in French Guiana, Guadeloupe, and Martinique only. Sediment samples were wet-sieved at 2 mm, freeze-dried, conditioned in 15 mL HDPE tubes, stored at 4 °C, and analyzed within 3 months.

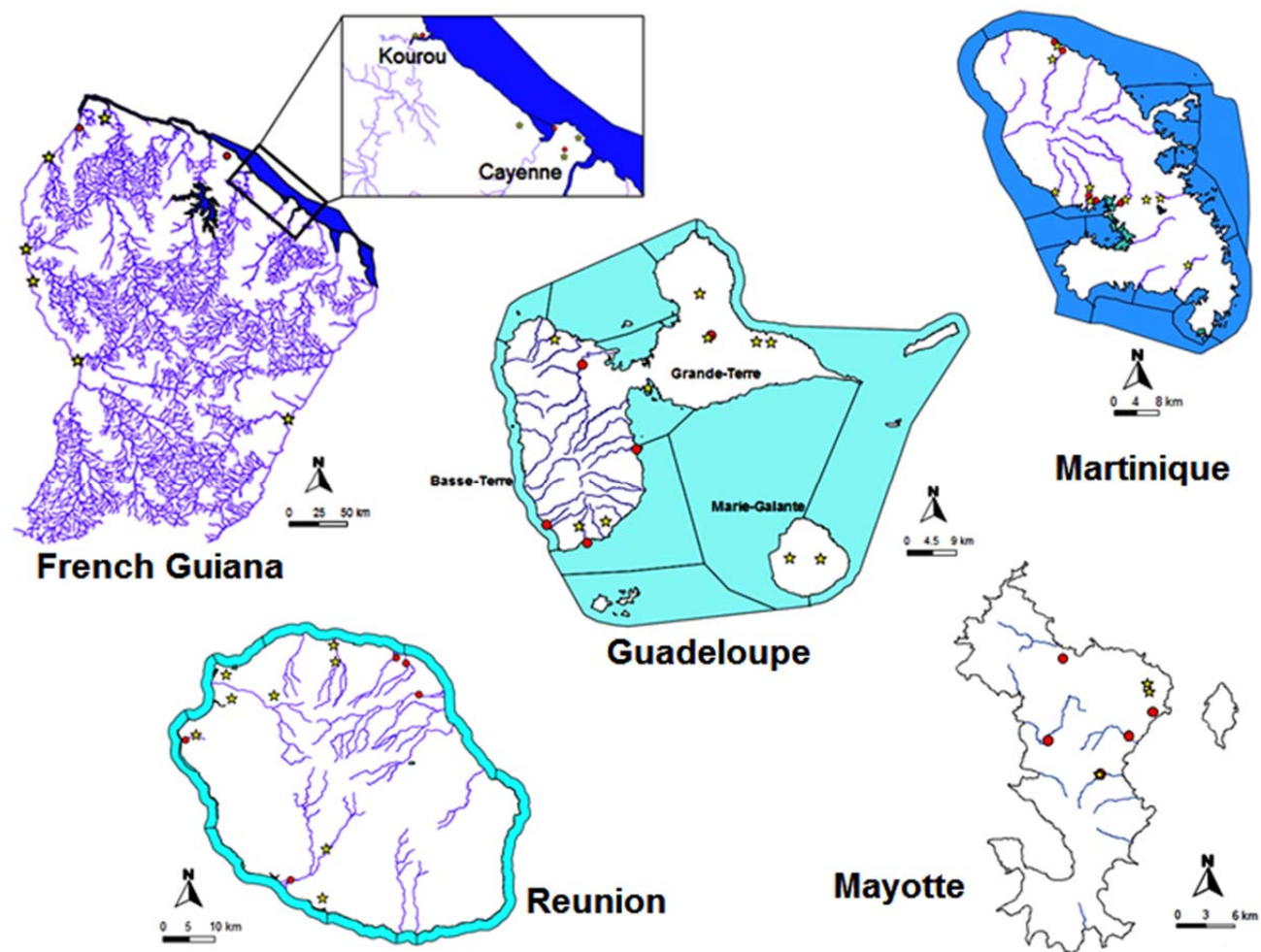


Fig.1. Maps showing the distribution of surface water (red dots) and groundwater (yellow stars) sampling sites in French Guiana, Guadeloupe, Martinique, Mayotte and Reunion.

2.3. Extraction and analysis

Extraction procedures of PFASs in surface water and sediment samples have been described elsewhere (Munoz et al., 2015). Groundwater samples (500 mL, unfiltered) were spiked with ISs (1 ng each) and passed through Strata X-AW cartridges previously conditioned with MeOH/NH⁴OH 0.2 % in water (v/v) and 5 mL of Milli-Q water, at a rate of approximately 8–12 mL min⁻¹. After sample loading, cartridges were rinsed with 5 mL of Milli-Q water, dried for 45 min, and finally centrifuged (3 min, 5000 rpm). Analytes were finally eluted with 2 x 4 mL of MeOH/NH⁴OH 0.2 % in water (v/v). Extracts were concentrated to 500 µL at 42 °C under a N² stream, transferred into polypropylene injection vials, and concentrated to 300 µL.

PFAS analysis was performed with ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) through a negative electrospray ionization source. Analyte separation was achieved with a Zorbax Eclipse Plus C18 column run in gradient elution, and quantitation performed with a 6460 triple quadrupole mass spectrometer (Agilent Technologies, Massy, France) (Munoz et al., 2015).

2.4. Quality Control

Filtration blanks were run in triplicate for each sampling campaign and consisted in 500 mL of mineral water (Vittel) passed through glass fiber filters before undergoing the entire SPE procedure, non-filtered mineral water serving as a reference. PFPeA was the only analyte detected in the first series of filtration tests (0.16 ± 0.08 ng), while no PFASs were detected in the two subsequent campaigns (data not shown). Stability at 4 °C was assessed in a surface water sample spiked at 10 ng L⁻¹. No loss was observed for most PFASs even after 7 days of storage in HDPE bottles, except for PFTeDA that suffered a 50 % decrease, probably due to sorption (SI Fig.S2).

Recovery rates were in the 53–134 % and 56–86 % range for 1 ng L⁻¹ spiked mineral water and 0.5 ng g⁻¹ spiked reference sand, respectively. Full details on procedural blanks, as well as recovery and accuracy rates, are provided elsewhere (Munoz et al., 2015).

When analytes were found in procedural blanks, samples were blank-corrected and the limit of detection (LOD) was calculated as the standard deviation of blanks, multiplied by the $t_{n-1,95}$ student coefficient, n being the number of blank replicates (Muir and Sverko, 2006). Otherwise, the LOD was determined from the signal-to-noise ratio (SNR) observed in low-contaminated samples or in 1 ng L^{-1} spiked mineral water and 0.5 ng g^{-1} spiked reference sand. When two transitions were followed (quantitation and confirmation), the transition with the lowest SNR was chosen for LOD calculation. LODs were in the range $0.01\text{--}0.27 \text{ ng L}^{-1}$ in water samples and $0.001\text{--}0.12 \text{ ng g}^{-1}$ dry weight (dw) in sediment samples (**Table 1**). Limits of quantification (LOQ) were set at $3 \times \text{LOD}$.

2.5. Statistics and GIS

Statistical tests were performed with the R statistical software (R version 2.15.3, R Core Team, 2013). Statistical significance was set at a 0.05 p-value cutoff. Specific statistical treatments for data below detection limits (non-detects) were preferred to substitution methods (see also Munoz et al., 2015). Descriptive statistics of PFASs such as mean, median, or standard deviation were computed by a Regression on Order Statistics (robust ROS) approach (cenros function from the NADA R-package), assuming a lognormal distribution to impute unknown observations prior to the computation of summary statistics (Helsel, 2012). The Akritas-Theil-Sen (ATS) regression (cenken function of the NADA R-package) was used to investigate correlations between compounds, returning Kendall's tau nonparametric correlation coefficient (τ), the slope and intercept of the ATS line, and the p-value of the regression. Note that no descriptive statistics or correlations were reported for compounds with more than 80 % censored observations, since tenuous statistics may be obtained above this threshold (Helsel, 2012). Quantum GIS 1.8.0 "Lisbona" (QGIS) was used to design the graphical abstract and to display the spatial distribution of sampling locations. Contour maps and corresponding hydrographic layers were obtained from data-publica.com (editor: French Ministry of Ecology, updated 19th December 2011).

3. Results and discussion

3.1. PFAS occurrence and levels

In surface water samples, 15 PFASs out of 21 were detected (**Fig.2a**), the highest detection frequencies corresponding to PFOS (79 %, including both linear and branched isomers) and PFOA (65 %). This is consistent with a 2012 French metropolitan nationwide survey on 133 rivers and lakes (Munoz et al., 2015), although much higher detection frequencies were reported for PFOS and PFOA (89 and 84 %, respectively) (LODs being similar between the two campaigns since the metropolitan and overseas data were generated by a single laboratory and using a common analytical procedure). Other frequently detected compounds included, among others, short-chain carboxylates (39–47 %) and sulfonates (e.g., 51 and 49 % for PFHxS and PFBS, respectively). Long-chain carboxylates were never detected, neither was PFDS, in line with recent reports for metropolitan France (Labadie and Chevreuil, 2011a,b; Munoz et al., 2015). ΣPFASs fell between $< \text{LOD}$ and 77 ng L^{-1} and amounted to

7 ng L⁻¹ on average (median: 1.8 ng L⁻¹), much lower than levels reported for mainland France (mean Σ PFASs = 28 ng L⁻¹; median: 7.9 ng L⁻¹) (Munoz et al., 2015). Note that, in both cases, non-detects were integrated in the average calculation (see also Section 2.5). Individual compounds were usually reported in the low ng L⁻¹ range on average, L-PFOS and Br-PFOS amounting to 1 and 0.8 ng L⁻¹, respectively, PFOA to 0.7 ng L⁻¹, and short-chain carboxylates to 0.4–0.8 ng L⁻¹ (**Table 1**).

Detection frequencies were generally lower in groundwater than in surface water (**Fig.2b**). In groundwater, 17 out of the 21 targeted PFASs were detected, at least one PFAS being detected in 69 % of samples. The most recurring compounds were PFBS, PFHxS, PFOA and PFHxA (45, 44, 40 and 39 %, respectively). L-PFOS and Br-PFOS were also detected in 39 % of samples, in excellent agreement with the 48 % PFOS occurrence reported by Loos et al. (2010) in European impacted groundwater samples (**Table 2**) but higher than the 20 % occurrence reported by Lopez et al. (2015) in French metropolitan groundwater. In spite of the relatively low detection frequencies observed, the maximum PFAS levels in groundwater were about one order of magnitude higher than those observed in surface waters (Σ PFASs range in groundwater: < LOD–638 ng L⁻¹).

PFOS was the most frequently detected compound in sediment samples (67 % and 27 % for L-PFOS and Br-PFOS, respectively), while long-chain carboxylates were only sporadically detected (e.g., 7 % for PFUnDA and PFTeDA) and sulfonamide acetic acids (MeFOSAA, EtFOSAA) not detected at all. FOSA was the second most often detected PFAS (33 %), albeit at low levels since only one sample out of 15 actually displayed a concentration above the LOQ. Σ PFASs ranged between < LOD and 25 ng g⁻¹ dw (median: 0.17 ng g⁻¹ dw; mean: 2.1 ng g⁻¹ dw), while L-PFOS oscillated between < 0.02 and 22 ng g⁻¹ dw and Br-PFOS between < 0.04–2.4 ng g⁻¹ dw. Apart from FOSA and PFOS isomers, the mean concentration of other analytes fell consistently below the reported LODs.

3.2. Composition profiles

The abundance profile in surface waters is depicted in **Fig.3a**. The PFAS pattern was dominated by PFOS, with a mean relative contribution of 31 % to the Σ PFASs (median of 30 %), in line with profiles previously reported in mainland France (Munoz et al., 2015). Other key compounds included PFBA (mean: 17 %; median: 4 %) and PFOA (mean: 12 %; median: 8 %), while short-chain sulfonates were less prominent.

Conversely, in groundwater (**Fig.3b**), the contribution of PFBS and PFHxS to the total sum of PFASs rose to 11 and 17 % on average (median of 5 and 9 %, respectively), thus prevailing over PFOS isomers (mean: 10 and 11 %; median: 2 and 2.2 % for Br-PFOS and L-PFOS, respectively). This shift in sulfonate abundance between groundwater and surface water may be explained by differences of mobility, PFOS isomers being more likely to sorb onto sediments and soils during the water infiltration process than shorter-chain sulfonates (Vierke et al., 2014).

Table 1. PFAS levels in water and sediments. Descriptive statistics were generated with the cenros function of the NADA R-package, including median (Med), mean (Mean) and standard deviation (SD), and were only computed for compounds with less than 80 % censored observations (censoring percentage: % cen). Maximum values (Max) are also indicated. (LOD: limit of detection; dw: dry weight; NQ: analytes not targeted in the sediment; NA: not available).

	LOD _{water}	Surface water					Groundwater					LOD _{sediment}	Sediment				
Samples		n = 75					n = 80						n = 15				
Sample size		500 mL					500 mL						1 g				
Unit	ng L ⁻¹	ng L ⁻¹					ng L ⁻¹					ng g ⁻¹ dw	ng g ⁻¹ dw				
		% cen	Med	Mean	SD	Max	% cen	Med	Mean	SD	Max		% cen	Med	Mean	SD	Max
PFBA	0.17	53	0.15	0.80	1.9	9.7	67	<LOD	2.9	9.4	63	-	NQ				
PFPeA	0.27	61	<LOD	0.78	1.8	12	67	<LOD	8.2	34	213	-					
PFHxA	0.10	61	<LOD	0.83	2.5	20	61	<LOD	7.3	27	158	-					
PFHpA	0.05	59	0.08	0.42	0.84	5.1	65	<LOD	3.3	14	87	0.12	100	-	-	-	-
PFOA	0.08	35	0.21	0.71	1.9	15	60	0.06	1.1	2.8	14	0.11	100	-	-	-	-
PFNA	0.04	81	-	-	-	0.55	84	-	-	-	1.6	0.04	100	-	-	-	-
PFDA	0.07	80	<LOD	0.06	0.10	0.69	95	-	-	-	0.83	0.05	93	-	-	-	0.15
PFUnDA	0.05	99	-	-	-	0.15	99	-	-	-	0.25	0.01	93	-	-	-	0.03
PFDoDA	0.07	100	-	-	-	-	99	-	-	-	0.58	0.06	87	-	-	-	-
PFTTrDA	0.02	100	-	-	-	-	100	-	-	-	-	0.02	100	-	-	-	-
PFTeDA	0.07	100	-	-	-	-	100	-	-	-	-	0.02	93	-	-	-	0.07
PFBS	0.02	51	0.09	0.66	2.2	13	55	0.04	1.3	5.7	38	-	NQ				
PFHxS	0.02	49	0.16	0.75	1.2	5.0	56	0.07	4.6	22	143	0.02	93	-	-	-	0.88
PFHpS	0.02	81	-	-	-	0.34	85	-	-	-	5.5	0.03	100	-	-	-	-
Br-PFOS	0.01	27	0.21	0.81	1.2	5.1	61	0.05	2.1	7.5	42	0.04	73	<LOD	0.20	0.62	2.4
L-PFOS	0.06	29	0.16	1.1	1.9	8.3	61	0.02	2.4	7.9	38	0.01	33	0.13	1.7	5.6	22
PFDS	0.04	100	-	-	-	-	99	-	-	-	0.06	0.18	100	-	-	-	-
MeFOSAA	NA	NA					NA					0.01	100	-	-	-	-
EtFOSAA	NA											0.01	100	-	-	-	-
FOSA	0.06	88	-	-	-	0.11	97	-	-	-	0.17	0.003	73	<LOD	0.013	0.03	0.12
MeFOSA	0.09	100	-	-	-	-	100	-	-	-	-	0.01	100	-	-	-	-
EtFOSA	0.06	100	-	-	-	-	100	-	-	-	-	0.001	100	-	-	-	-
6:2 FTSA	0.05	77	<LOD	0.23	0.66	3.9	92	-	-	-	150	-	NQ				
ΣPFASs		1.8	7.0	12	77		0.56	39	119	638			0.17	2.0	6.4	25	

Table 2. Comparison with PFAS detection limits (LOD), detection frequencies (DF) and maximum levels (MAX) reported in other groundwater studies.

Reference	Mukarami et al. (2009)			Loos et al. (2010)			Boiteux et al. (2012)			Kuroda et al. (2014)			Present study		
Location	Tokyo (Japan)			Europe			Mainland France			Tokyo (Japan)			Overseas France		
Samples	n = 16			n = 164			n = 163			n = 53			n = 80		
	LOD ng L ⁻¹	DF %	MAX ng L ⁻¹	LOD ng L ⁻¹	DF %	MAX ng L ⁻¹	LOD ng L ⁻¹	DF %	MAX ng L ⁻¹	LOD ng L ⁻¹	DF %	MAX ng L ⁻¹	LOD ng L ⁻¹	DF %	MAX ng L ⁻¹
PFBA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4	4	12	NA	NA	NA	0.19	33	63
PFPeA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4	5	40	NA	NA	NA	0.25	33	213
PFHxA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4	9	28	NA	NA	NA	0.12	39	158
PFHpA	0.1-0.6	87	20	0.4	30	21	4	4	39	0.25	>60	61	0.07	35	87
PFOA	0.1-0.6	100	60	0.4	66	39	4	11	16	0.25	>70	1800	0.05	40	14
PFNA	0.1-0.6	100	94	0.4	15	10	4	3	14	0.25	>65	620	0.09	16	1.6
PFDA	0.1-0.6	37	11	0.4	24	11	4	0	< LOD	0.25	>80	34	0.12	5	0.83
PFUnDA	0.1-0.6	37	1.0	NA	NA	NA	4	NA	NA	0.25	>50	28	0.18	1	0.25
PFDoDA	0.1-0.6	37	2.1	NA	NA	NA	4	NA	NA	0.25	>50	7.6	0.19	1	0.58
PFTTrDA	0.1-0.6	25	0.65	NA	NA	NA	4	NA	NA	0.25	>20	5.9	0.21	0	< LOD
PFBS	NA	NA	NA	0.3	15	25	4	4	9	NA	NA	NA	0.01	45	38
PFHxS	NA	NA	NA	0.4	35	19	4	18	32	0.25	>75	56	0.02	44	143
PFOS	0.1-0.6	100	133	0.4	48	135	4	18	50	0.25	>65	990	0.01	46	38
FOSA	0.1-0.6	37	1.3	NA	NA	NA	4	NA	NA	0.25	>20	96	0.07	3	0.17

LOD: limit of detection. NA: not available.

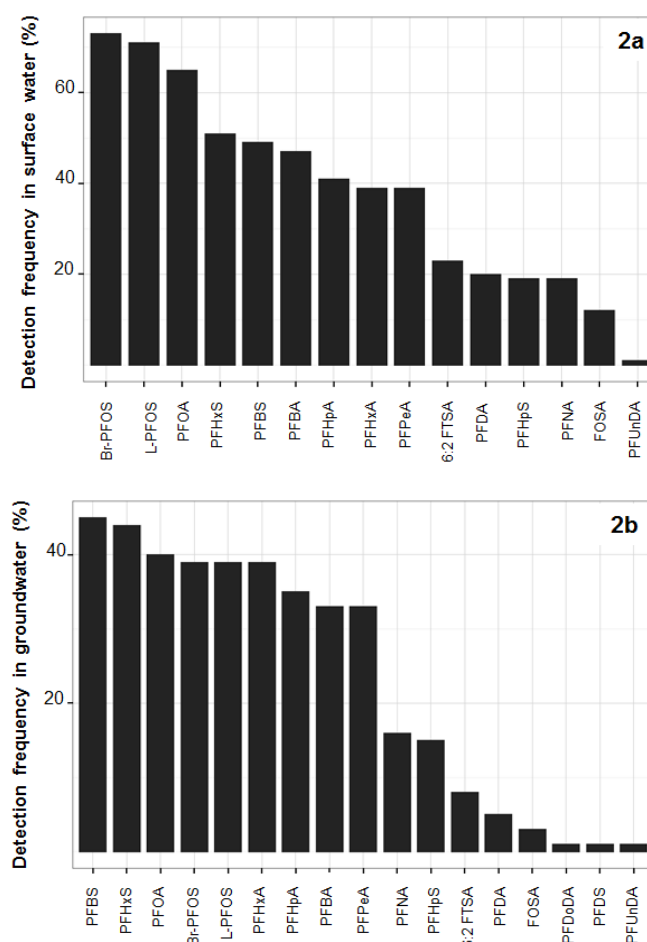


Fig.2. PFAS detection frequencies. **(2a)** Detection frequencies in surface waters (n=75), ranging from 1 to 73 % (not detected: PFDoDA, PFTTrDA, PFTeDA, PFDS, MeFOSA, EtFOSA). **(2b)** Detection frequency in groundwater (n=80), ranging from 1 to 45 % (not detected: PFTTrDA, PFTeDA, MeFOSA, EtFOSA).

A similar phenomenon was previously described for carboxylates, a shift between PFOA (C₈) and PFBA (C₄) contributions in groundwater having been observed with increasing distance from the contamination point source (Eschauzier et al., 2013). In our survey, while PFBA and PFOA mean contributions in groundwater remained similar (mean: 9 %), that of PFHxA (C₆), in contrast, nearly doubled compared to surface waters. This was further confirmed by a Wilcoxon's rank sum test, significant statistical difference being detected between surface and groundwater samples when examining PFHxA/PFOA ratios, as well as PFHxS/L-PFOS ratios.

In sediments, PFOS prevailed over other compounds, with an overwhelming 86 % of Σ PFASs, of which 90 % was imputed to the sole linear isomer (L-PFOS), in excellent agreement with the distribution of PFOS isomers observed in hydrosystems (e.g., Houde et al., 2008).

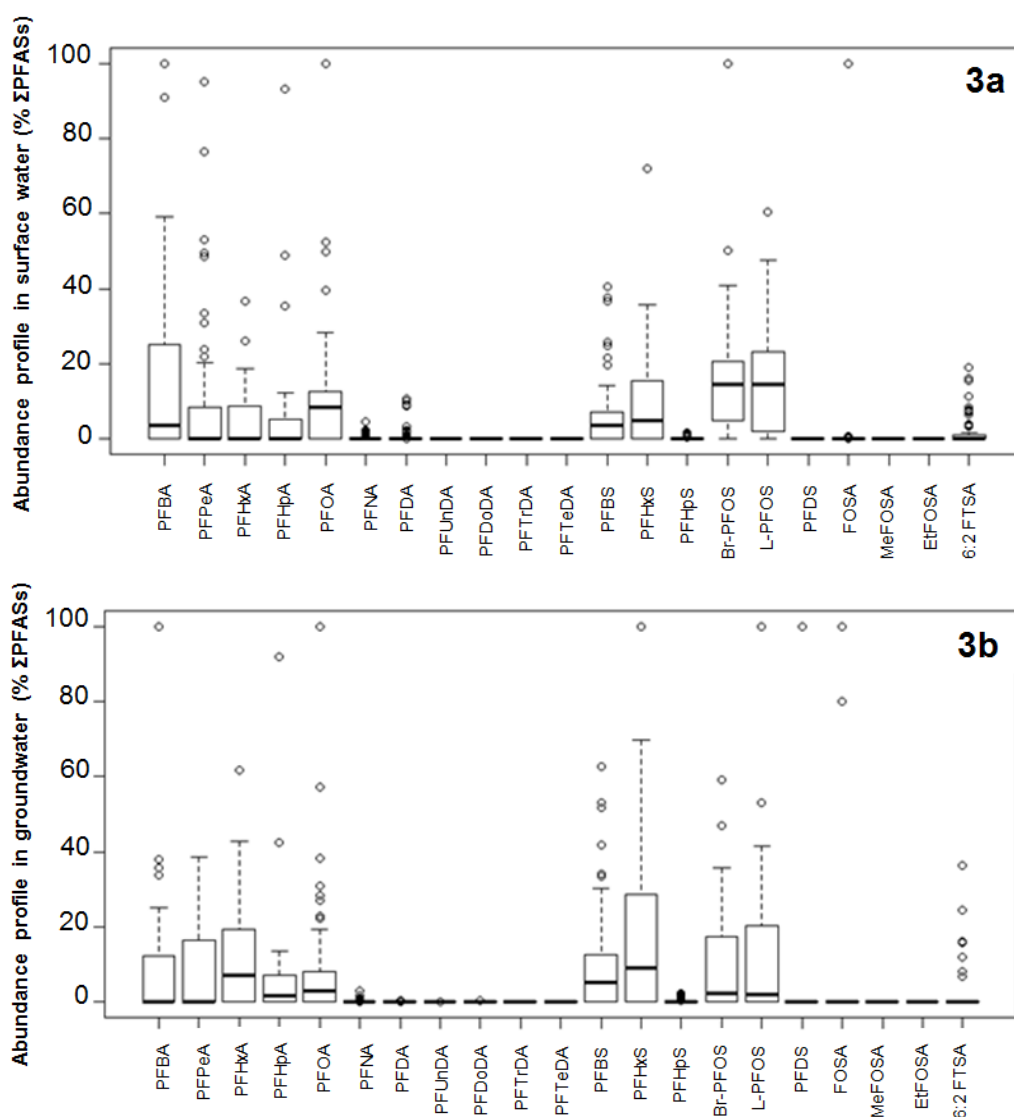


Fig.3. Boxplots summarizing the abundance profile of PFASs in surface water (**3a**) and groundwater (**3b**).

3.3. Spatial distribution in Overseas France

This sub-section briefly reports on the spatial trends of PFAS contamination in the French Overseas Departments. The lowest average PFAS concentrations were found in Mayotte, where Σ PFASs oscillated between $< \text{LOD}$ – 4.6 ng L^{-1} in surface waters, while no PFASs were quantified in groundwater. In surface waters, Σ PFASs did not exceed a few tens of ng L^{-1} (e.g., Σ PFASs = $9\text{--}22 \text{ ng L}^{-1}$ at Bois Chaudat lake close to the French Guiana space center), about an order of magnitude lower than maximum values reported for mainland France surface waters (Munoz et al., 2015). Negligible PFAS levels were often reported in groundwater, Σ PFASs remaining below 2 ng L^{-1} in limestone aquifers of Grande-Terre and Marie-Galante islands (Guadeloupe), as well as in the most secluded regions of French Guiana (e.g., Σ PFASs in the range $0.1\text{--}0.4 \text{ ng L}^{-1}$ in Maripasoula, Guiana Amazonian Park).

However, PFAS concentrations greatly exceeded background levels at some specific groundwater monitoring sites, revealing relatively high amounts of short-chain carboxylates and 6:2 FTSA (**Fig.4**). The highest PFAS levels were identified around the edges of the Petit Cul de Sac Marin (Guadeloupe), in a well drilled in the immediate vicinity of a power plant (GW_Gua02). No temporal variability was observed between the two campaigns in levels (Σ PFASs = 614 and 638 ng L^{-1} , respectively), as well as in concentration profiles (PFPeA: $29\text{--}33 \%$; PFHxA: $23\text{--}25 \%$; 6:2 FTSA: $16\text{--}24 \%$), suggesting that these observations were very unlikely the consequence of an analytical artifact or punctual contamination, but rather the result of a relatively persistent pollution. Similar profiles were also reported in groundwater next to an oil refinery (GW_Guy10, **Fig.4**), or near a composting facility (GW_Guy09), both from the Cayenne conurbation (French Guiana). Markedly high 6:2 FTSA levels at these sites may be explained by the use of firefighting foams containing either 6:2 FTSA or similar fluorotelomer-based compounds (Place and Field, 2012) which might be precursors to 6:2 FTSA. Arguably, 6:2 FTSA or its precursors may be spilled during firefighting training activities (Ahrens et al., 2015), before eventually leaching out into groundwater systems as was observed by Schultz et al. (2004). As for the high levels of short-chain perfluoroalkyl carboxylates reported, they may be, in part, due to the degradation of precursors, PFBA, PFPeA and PFHxA having been reported amongst the many products resulting from 6:2 FTSA breakdown (Wang et al., 2011; Houtz et al., 2013). In addition, other polyfluoroalkyl chemicals not targeted in the present study may also have degraded to short-chain perfluoroalkyl carboxylates (Liu et al., 2010; Liu and Mejia Avendaño, 2013; Zhao et al., 2013).

Other hot spots of groundwater pollution exhibited starkly divergent profiles, probably due to different contamination sources, geological contexts, or hydrodynamics. For instance, Σ PFASs of around 300 ng L^{-1} was reported in La Meynard source (Martinique) (GW_Mar03), with a predominance of perfluoroalkyl sulfonates (Σ PFASs representing $80\text{--}82 \%$ of Σ PFASs) and, to a lesser extent, PFHxA (10%), while 6:2 FTSA was not detected (**Fig.4**). The nature of the geological profile may partly explain the high values of PFOS observed in groundwater: since the very first meters of the vertical cross-section are mainly composed of andesitic tuffs and extensively fractured ancient submarine lava flows (Cottez and Thibaut, 1973), fast percolation may occur in these volcanic bedrocks, which may

render PFOS sorption less favorable (Charlier et al., 2011). In the nearest surface water sampling location (Monsieur River, 1.6 km downstream) (SW_Mar03), the profile was essentially the same (Σ PFASs = 53–54 % of the PFAS profile) and, although much lower concentrations were reported for the dissolved phase (Σ PFASs < 16 ng L⁻¹) than in groundwater, those of surficial sediments, in contrast, reached top levels (see next paragraph for further details).

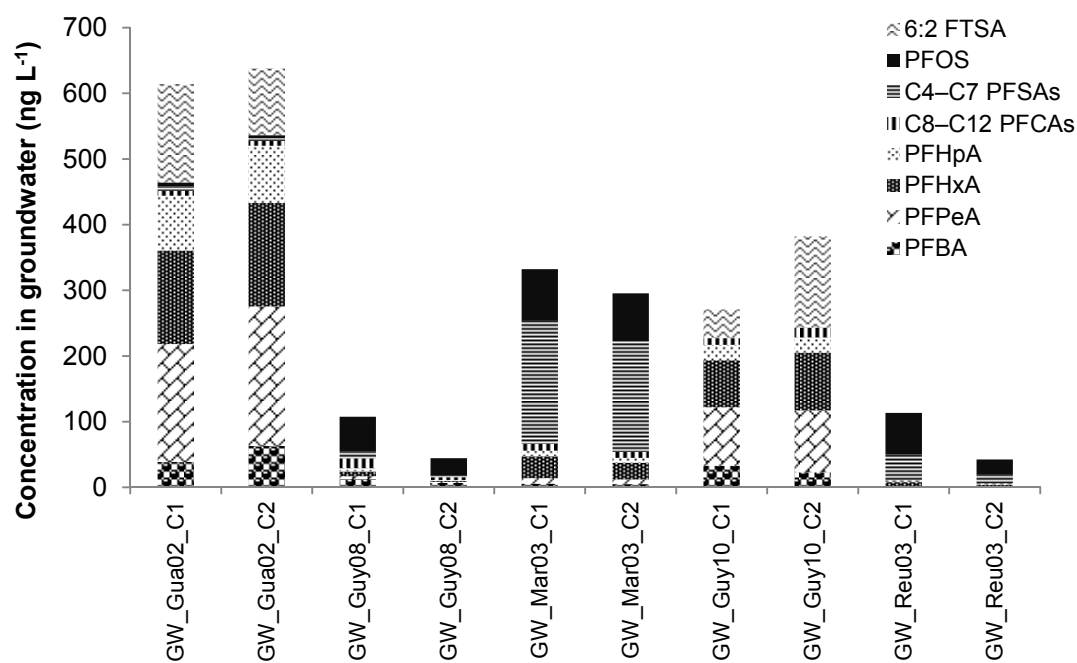


Fig.4. Concentration profiles observed in groundwater at the five top PFAS hot spots for the first (C1) and second (C2) sampling campaigns.

In sediments from Guadeloupe, analytes remained systematically below method detection limits, which may be explained by the relatively low levels observed in corresponding surface waters (mean Σ PFASs: 2.8 ng L⁻¹; median: 1.8 ng L⁻¹), as well as the characteristics of the sediments which were both coarse-grained (fine fraction content < 2.2 %) and with low organic carbon content (< 0.4–1.3 %). French Guiana sediments displayed distinct grain size (fine fraction content: 14.6–70 %) and higher organic content; however, despite this fact, only trace amounts of PFASs were found, Σ PFASs ranging from 0.1 to 0.5 ng g⁻¹ dw and the profile being composed exclusively of PFOS isomers (96–100 %) and FOSA (< 3 %). The most polluted sediment was found in Monsieur River (Martinique) (SW_Mar03), which descends from Massif des Pitons before flowing through the municipalities of Saint-Joseph and Fort-de-France. At this location, Σ PFASs reached 25 ng g⁻¹ dw, falling close to maximum amounts reported for mainland France surficial sediments, and likely reflecting urban inputs (Munoz et al., 2015).

3.4. Correlations between PFASs

Correlations between compounds were investigated following the methodology described by Helsel (2012) for non-detects, substitution methods being generally not recommended for this purpose. Also

note that PFASs with censoring percentages higher than 80 % were not considered in this section (see also Munoz et al., 2015). Perfluoroalkyl sulfonates correlated positively with each other ($\tau > 0.49$) in surface water (SI **Table S3**), the strongest correlation coefficient being observed between L-PFOS and Br-PFOS ($p < 0.0001$; $\tau = 0.77$), with a 1.36 slope when plotting L-PFOS as a function of Br-PFOS, akin to the 1.12 value ($n = 333$) obtained for mainland France surface waters (Munoz et al., 2015). PFOA correlated well with PFHxA and PFHpA ($\tau = 0.51$ and 0.50 , respectively), and even better with perfluoroalkyl sulfonates ($\tau = 0.56$ – 0.61), suggesting similar sources or environmental fate for these compounds. In groundwater ($n = 80$), only short-chain and medium-chain compounds were examined (SI **Table S4**). Sulfonates were found to be somewhat less correlated between each other in groundwater (e.g., $\tau = 0.54$ for L-PFOS plotted against Br-PFOS) than in surface waters; this might be due to PFAS fractionation during the infiltration process. The opposite was observed for short-chain carboxylates, correlation coefficients between PFBA, PFPeA and PFHxA being in the range 0.47 – 0.52 in groundwater, to be compared with 0.26 – 0.33 in surface water. This, again, might be due to fractionation since these three compounds are prone to migration through soils and sediments and have shown complete tracer-like breakthrough (Vierke et al., 2014).

4. Conclusions

This work demonstrates, for the first time, the occurrence of PFASs in the tropical French Overseas Departments, at concentrations that were generally lower than those reported for mainland France. In both surface water and sediment samples, the highest contribution to the PFAS profile was that of PFOS, while groundwater samples exhibited relatively high abundances of short-chain congeners, providing further evidence for different sorption and mobility among PFASs. These results suggest that compounds with greater mobility (e.g., PFHxA) will remain preferentially in surface water or end up in groundwater through infiltration processes, while those with greater sorption propensity (e.g., PFOS) will likely bind to suspended particulate matter, sediments, or soils, and presumably exhibit different environmental dynamics. In addition, the geological nature of soils may be another key underlying factor to explain the divergence (or similarity) observed in PFAS profiles between surface water and groundwater. Short-chain perfluoroalkyl carboxylates and 6:2 FTSA were concomitantly reported in groundwater in the close vicinity of several industrial sites, with concentrations at times beyond 200 ng L^{-1} . This may indicate the existence of firefighting training activities at such sites, wherein firefighting foams containing 6:2 FTSA or other proprietary polyfluoroalkyl surfactants may be spilled. It can be hypothesized that polyfluoroalkyl compounds may subsequently enter aquatic ecosystems and undergo a series of environmental transformations, eventually leading to more environmentally persistent PFASs. Further investigations are still required to document the occurrence and fate of emerging pollutants in groundwater resources, the latter being of paramount importance for drinking water production.

Acknowledgments

This national survey was organized by the French Ministry of Ecology and financed by the French National Agency for Water and Aquatic Environments (ONEMA), as part of the 2012 national prospective campaign on emerging contaminants (“Etude prospective sur les contaminants émergents”). The authors are grateful to local overseas authorities (D.E.A.L.) and river basin agencies (O.D.E) for sampling and logistics support. This study has been carried out with financial support from the French National Research Agency (ANR) in the frame of the “Investments for the future” Program, within the Cluster of Excellence COTE (ANR-10-LABX-45). IdEx Bordeaux (ANR-10-IDEX-03-02) provided the PhD grant allocated to G. Munoz. The authors also acknowledge funding from the INTERREG ORQUE SUDOE project (SOE3/P2/F591). The Aquitaine Region and the European Union (CPER A2E project) are acknowledged for their financial support. Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund (FEDER).

References

- Ahrens, L.; Bundschuh, M., **2014**. Fate and effects of poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: a review. *Environmental Toxicology and Chemistry* 33, 1921–1929.
- Ahrens, L.; Norström, K.; Viktor, T.; Cousins, A.P.; Josefsson, S. **2015**. Stockholm Arlanda Airport as a source of per- and polyfluoroalkyl substances to water, sediment and fish. *Chemosphere* (in press).
- Audru, J.C.; Bitri, A.; Desprats, J.F.; Dominique, P.; Eucher, G.; Hachim, S.; Jossot, O.; Mathon, C.; Nédellec, J.L.; Sabourault, P.; Sedan, O.; Stollsteiner, P.; Terrier-Sedan, M. **2010**. Major natural hazards in a tropical volcanic island: A review for Mayotte Island, Comoros archipelago, Indian Ocean. *Engineering Geology* 114, 364–381.
- Bocquené, G.; Franco, A. **2005**. Pesticide contamination of the coastline of Martinique. *Marine Pollution Bulletin* 51, 612–619.
- Boiteux, V.; Dauchy, X.; Rosin, C.; Munoz, J.F. **2012**. National Screening Study on 10 Perfluorinated Compounds in Raw and Treated Tap Water in France. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 63, 1–12.
- Buck, R.C.; Franklin, J.; Berger, U.; Conder, J.M.; Cousins, I.T.; de Voogt, P.; Jensen, A.A.; Kannan, K.; Mabury, S.A.; van Leeuwen, S.P.J. **2011**. Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances in the Environment: Terminology, Classification, and Origins. *Integrated Environmental Assessment and Management* 7, 513–541.
- Cabidoche, Y.M.; Achard, R.; Cattán, P.; Clermont-Dauphin, C.; Massat, F.; Sansoulet, J. **2009**. Long-term pollution by chlordecone of tropical volcanic soils in the French West Indies: A simple leaching model accounts for current residue. *Environmental Pollution* 157, 1697–1705.
- Campo, J.; Pérez, F.; Masiá, A.; Picó, Y.; Farré, M.; Barceló, D. **2015**. Perfluoroalkyl substance contamination of the Llobregat River ecosystem (Mediterranean area, NE Spain). *Science of the Total Environment* 503–504, 48–57.
- Charlier, J.B.; Patrick Lachassagne, Bernard Ladouche, B.; Cattán, P.; Moussa, R.; Voltz, M. **2011**. Structure and hydrogeological functioning of an insular tropical humid andesitic volcanic watershed: A multi-disciplinary experimental approach. *Journal of Hydrology* 398, 155–170.
- Clara, M.; Gans, O.; Weiss, S.; Sanz-Escribano, D.; Scharf, S.; Scheffknecht, C. **2009**. Perfluorinated alkylated substances in the aquatic environment: An Austrian case study. *Water Research* 43, 4760–4768.
- Coat, S.; Monti, D.; Legendre, P.; Bouchon, C.; Massat, F.; Lepoint, G. **2011**. Organochlorine pollution in tropical rivers (Guadeloupe): Role of ecological factors in food web bioaccumulation. *Environmental Pollution* 159, 1692–1701.
- Cottez, S.; Thibaut, P.M. **1973**. Recherche d’eaux souterraines dans le bassin de la rivière Monsieur (Martinique). Bureau de Recherches Géologiques et Minières (BRGM), rapport 73 ANT 23 (URL: <<http://infoterre.brgm.fr/rapports/73-ANT-023.pdf>>).

Cruz, J.; Botta, F.; Giraudel, J.L.; Le Ménach, K.; Dévier, M.H.; Budzinski, H. **2015**. Occurrence of fipronil and its metabolites in French surface waters. *Personal Communication*.

Doelsch, E.; Van de Kerchove, V.; Saint Macary, H. **2006**. Heavy metal content in soils of Reunion (Indian Ocean). *Geoderma* 134, 119–134.

Eschauzier, C.; Raat, K.J.; Stuyfzand, P.J.; De Voogt, P. **2013**. Perfluorinated alkylated acids in groundwater and drinking water: Identification, origin and mobility. *Science of the Total Environment* 458–460, 477–485.

Gewurtz, S.B.; Backus, S.M.; De Silva, A.O.; Ahrens, L.; Armellin, A.; Evans, M.; Fraser, S.; Gledhill, M.; Guerra, P.; Harner, T.; Helm, P.A.; Hung, H.; Khera, N.; Kim, M.G.; King, M.; Lee, S.C.; Letcher, R.J.; Martin, P.; Marvin, C.; McGoldrick, D.J.; Myers, A.L.; Pelletier, M.; Pomeroy, J.; Reiner, E.J.; Rondeau, M.; Sauve, M.C.; Sekela, M.; Shoeib, M.; Smith, D.W.; Smyth, S.A.; Struger, J.; Spry, D.; Syrgiannis, J.; Waltho, J. **2013**. Perfluoroalkyl acids in the Canadian environment: Multi-media assessment of current status and trends. *Environment International* 59, 183–200.

Giesy, J.P.; Kannan, K. **2001**. Global Distribution of Perfluorooctane Sulfonate in Wildlife. *Environmental Science & Technology* 35, 1339–1342.

Hansen, K.J.; Clemen, L.A.; Ellefson, M.E.; Johnson, H.O. **2001**. Compound specific, quantitative characterization of organic fluorochemicals in biological matrices. *Environmental Science & Technology* 35, 766–770.

Helsel, D. **2012**. Statistics for Censored Environmental Data Using Minitab and R, 2nd ed. Wiley.

Houde, M.; Czub, G.; Small, J.M.; Backus, S.; Wang, X.; Alaee, M.; Muir, D.C.G. **2008**. Fractionation and Bioaccumulation of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) Isomers in a Lake Ontario Food Web. *Environmental Science & Technology* 42, 9397–9403.

Houtz, E.F.; Higgins, C.P.; Field, J.A.; Sedlak, D.L. **2013**. Persistence of perfluoroalkyl acid precursors in AFFF-impacted groundwater and soil. *Environmental Science & Technology* 47, 8187–8195.

Inoue, K.; Okada, F.; Ito, R.; Kato, S.; Sasaki, S.; Nakajima, S.; Uno, A.; Saijo, Y.; Sata, F.; Yoshimura, Y. **2004**. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and related perfluorinated compounds in human maternal and cord blood samples: Assessment of PFOS exposure in a susceptible population during pregnancy. *Environmental Health Perspectives* 112, 1204–1207.

Kennedy, G.L., **1987**. Increase in mouse liver weight following feeding of ammonium perfluorooctanoate and related fluorochemicals. *Toxicol. Lett.* 39, 295–300.

Kuroda, K.; Mukarami, M.; Oguma, K.; Takada, H.; Takizawa, S. **2014**. Investigating sources and pathways of perfluoroalkyl acids (PFAAs) in aquifers in Tokyo using multiple tracers. *Science of the Total Environment* 488–489, 51–60.

Kwadijk, C.J.A.F.; Korytár, P.; Koelmans, A.A. **2010**. Distribution of Perfluorinated Compounds in Aquatic Systems in the Netherlands. *Environmental Science & Technology* 44, 3746–3751.

Lam, N.H.; Cho, C.R.; Lee, J.S.; Soha, H.Y.; Lee, B.C.; Lee, J.A.; Tatarozako, N.; Sasaki, K.; Saitoe, N.; Iwabuchi, K.; Kannan, K.; Cho, H.S., **2014**. Perfluorinated alkyl substances in water, sediment, plankton and fish from Korean rivers and lakes: A nationwide survey. *Science of the Total Environment* 491–492, 154–162.

Labadie, P.; Chevreuil, M. **2011a**. Partitioning Behaviour of Perfluorinated Alkyl Contaminants Between Water, Sediment and Fish in the Orge River (nearby Paris, France). *Environmental Pollution* 159, 391–397.

Labadie, P.; Chevreuil, M. **2011b**. Biogeochemical Dynamics of Perfluorinated Alkyl Acids and Sulfonates in the River Seine (Paris, France) under Contrasting Hydrological Conditions. *Environmental Pollution* 159, 3634–3639.

Lau, C.; Butenhoff, J.L.; Rogers, J.M. **2004**. The developmental toxicity of perfluoroalkyl acids and their derivatives. *Toxicology and Applied Pharmacology* 198, 231–241.

Lau, C.; Anitole, K.; Hodes, C.; Lai, D.; Pfahles-Hutchens, A.; Seed, J. **2007**. Perfluoroalkyl Acids: a Review of Monitoring and Toxicological Findings. *Toxicological Sciences* 99, 366–394.

Liu, J.; Wang, N.; Buck, R.C.; Panciroli, P.K.; Folsom, P.W.; Sulecki, L.M.; Bellin, C.A. **2010**. Fluorotelomer alcohol aerobic biodegradation in soil and mixed bacterial culture. *Chemosphere* 78, 437–444.

Liu, J.; Mejia Avendaño, S. **2013**. Microbial degradation of polyfluoroalkyl chemicals in the environment: A review. *Environment International* 61, 98–114.

- Lloret, E.; Dessert, C.; Gaillardet, J.; Albéric, P.; Crispi, O.; Chaduteau, C.; Benedetti, M.F. **2011**. Comparison of dissolved inorganic and organic carbon yields and fluxes in the watersheds of tropical volcanic islands, examples from Guadeloupe (French West Indies). *Chemical Geology* 280, 65–78.
- Loos, R.; Locoro, G.; Comero, S.; Contini, S.; Schwesig, D.; Werres, F.; Balsaa, P.; Gans, O.; Weiss, S.; Blaha, L.; Bolchi, M.; Gawlik, B.M. **2010**. Pan-European survey on the occurrence of selected polar organic persistent pollutants in ground water. *Water Research* 44, 4115–4126.
- Möller, A.; Ahrens, L.; Surm, R.; Westerveld, J.; van der Wielen, F.; Ebinghaus, R.; de Voogt, P. **2010**. Distribution and sources of polyfluoroalkyl substances (PFAS) in the River Rhine watershed. *Environmental Pollution* 158, 3243–3250.
- Mukarami, M.; Kuroda, K.; Sato, N.; Fukushima, T.; Takizawa, S.; Takada, H. **2009**. Groundwater Pollution by Perfluorinated Surfactants in Tokyo. *Environmental Science & Technology* 43, 3480–3486.
- Muir, D.; Sverko, E. **2006**. Analytical methods for PCBs and organochlorine pesticides in environmental monitoring and surveillance: a critical appraisal. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 386, 769–789.
- Munoz, G.; Giraudel, J.L.; Botta, F.; Lestremau, F.; Dévier, M.H.; Budzinski, H.; Labadie, P. **2015**. Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: a French nationwide survey. *Science of the Total Environment* 517, 48–56.
- Olsen, G.W.; Hansen, K.J.; Stevenson, L.A.; Burris, J.M.; Mandel, J.H. **2003**. Human donor liver and serum concentrations of perfluorooctane sulfonate and other perfluorochemicals. *Environmental Science & Technology* 37, 888–891.
- Place, B.J.; Field, J.A. **2012**. Identification of novel fluorochemicals in aqueous film-forming foams used by the US military. *Environmental Science & Technology* 46, 7120–7127.
- Ramdine, G.; Fichet, D.; Louis, M.; Lemoine, S. **2012**. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediment and oysters (*Crassostrea rhizophorae*) from mangrove of Guadeloupe: Levels, bioavailability, and effects. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 79, 80–89.
- R Core Team, **2013**. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. (ISBN 3-900051-07-0, URL <<http://www.R-project.org>>).
- Schleupner, C. **2008**. Evaluation of coastal squeeze and its consequences for the Caribbean island Martinique. *Ocean & Coastal Management* 51, 383–390.
- Schultz, M.M.; Barofsky, D.; Field, J.A. **2004**. Quantitative Determination of Fluorotelomer Sulfonates in Groundwater by LC MS/MS. *Environmental Science & Technology* 38, 1828–1835.
- Valsecchi, S.; Rusconi, M.; Mazzoni, M.; Viviano, G.; Pagnotta, R.; Zaghi, C.; Serrini, G.; Polesello, S. **2015**. Occurrence and sources of perfluoroalkyl acids in Italian river basins. *Chemosphere* 129, 126–134.
- Vierke, L.; Möller, A.; Klitzke, S. **2014**. Transport of perfluoroalkyl acids in a water-saturated sediment column investigated under near-natural conditions. *Environmental Pollution* 186, 7–13.
- Vulliet, E.; Berlioz-Barbier, A.; Lafay, F.; Baudot, R.; Wiest, L.; Vauchez, A.; Lestremau, F.; Botta, F.; Cren-Olivé, C. **2014a**. A national reconnaissance for selected organic micropollutants in sediments on French territory. *Environmental Science and Pollution Research* 21, 11370–11379.
- Vulliet, E.; Tournier, M.; Vauchez, A.; Wiest, L.; Baudot, R.; Lafay, F.; Kiss, A.; Cren-Olivé, C. **2014b**. Survey regarding the occurrence of selected organic micropollutants in the groundwaters of overseas departments. *Environmental Science and Pollution Research* 21, 7512–7521.
- Wang, N.; Liu, J.; Buck, R.C.; Korzeniowski, S.H.; Wolstenholme, B.W.; Folsom, P.W.; Sulecki, L.M. **2011**. 6:2 fluorotelomer sulfonate aerobic biotransformation in activated sludge of waste water treatment plants. *Chemosphere* 82, 853–858.
- Zhao, L.; Folsom, P.W.; Wolstenholme, B.W.; Sun, H.; Wang, N.; Buck, R.C. **2013**. 6:2 Fluorotelomer alcohol biotransformation in an aerobic river sediment system. *Chemosphere* 90, 203–209.

IV.3. Cartographie des PFAS dans la colonne d'eau et le sédiment sur un gradient de salinité et de turbidité dans un estuaire macrotidal et étude des facteurs de contrôle de leur devenir environnemental

Résumé

La présence ubiquiste des composés poly- et perfluoroalkylés (PFAS) dans les environnements aquatiques est un fait étayé par de nombreuses études. Toutefois, certaines zones d'ombre demeurent concernant leur transport à l'interface terre-mer. Cette étude, menée dans le cadre de la campagne à la mer HALOGIR, propose d'améliorer notre connaissance de l'écodynamique des PFAS en milieu estuarien, à travers l'étude de cas de la Gironde. Dans cet estuaire, les PFAS se sont révélés omniprésents quoiqu'à de faibles niveaux ($\Sigma\text{PFAS} < 8,3 \text{ ng L}^{-1}$ en phase dissoute et $< 3,3 \text{ ng g}^{-1}$ de poids sec dans les sédiments). Le long du gradient amont/aval, la ΣPFAS en phase dissoute décroît linéairement avec l'augmentation de la salinité, ce qui confirme l'origine anthropique des PFAS (masses d'eau continentales). Le perfluorooctane sulfonate (PFOS), le perfluorohexane sulfonate (PFHxS) et le perfluorohexanoate (PFHxA) sont les congénères prédominants du profil moléculaire de PFAS en phase dissoute. Au niveau du bouchon vaseux, la fraction de PFAS adsorbée en phase particulaire par rapport au total présent dans la colonne d'eau (phase dissoute + MES) atteint des valeurs fréquemment supérieures à 50 % pour les perfluoroalkyle sulfonates et carboxylates. Des modèles empiriques du coefficient de distribution eau – phase particulaire (K_D) faisant intervenir à la fois la salinité et la charge en MES (matières en suspension) ont été proposés, et pourraient être utilisés en couplage avec des modèles hydrogéologiques pour estimer le flux de PFAS exporté vers la zone côtière. L'influence relative des facteurs de contrôle potentiels des niveaux de PFAS dans le sédiment a été évaluée par une approche de régression linéaire multiple. A cet égard, la fraction de carbone organique du sédiment – elle-même fortement corrélée à sa granulométrie – est apparue comme un facteur plus déterminant que la distance par rapport aux sources amont pour les PFAS à longue chaîne perfluoroalkyle.

Factors influencing the water-suspended sediment partitioning and the sediment levels of poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) along the salinity/turbidity gradient of a macrotidal estuary

Gabriel Munoz^a, H       Budzinski^b and Pierre Labadie^{b,*}

^a: University of Bordeaux, UMR 5805 EPOC, LPTC Research Group, 33405 Talence, France.

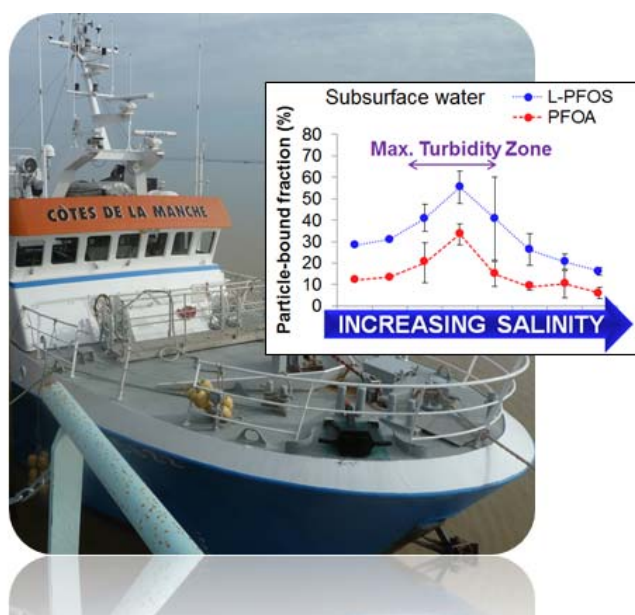
^b: CNRS, UMR 5805 EPOC, LPTC Research Group, 33405 Talence, France.

*Corresponding author. Contact: pierre.labadie@u-bordeaux.fr

To be submitted to

Journal of Hazardous Materials

Graphical abstract



Abstract

The environmental prevalence of poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) in aquatic ecosystems has been well documented. There are, nonetheless, knowledge gaps to be bridged as regards their land-sea transport through river discharge into coastal waters. Our survey was conducted in the Gironde estuary (southwestern France) where PFASs were ubiquitous albeit at low levels (e.g. $\Sigma\text{PFASs} < 8.3 \text{ ng L}^{-1}$ in the dissolved phase and $< 3.3 \text{ ng g}^{-1}$ in the sediment). In the dissolved phase, ΣPFASs decreased in a linear fashion with increasing salinity, while PFAS patterns remained essentially the same, being PFOS, PFHxS and PFHxA the predominant congeners. In the maximum turbidity zone (suspended solids up to 2600 mg L^{-1}), the particle-associated fraction was almost consistently $> 50 \%$ for long-chain perfluoroalkyl carboxylates and sulfonates. Models of K_D partitioning coefficients were derived by integrating both particle-concentration and salting-out effects, and could be used in the future to implement transport models integrating hydrodynamic parameters to estimate PFAS mass budgets at the land-sea interface. Multiple linear regressions also provided insights into the relative influence of factors controlling PFAS sediment levels. In that respect, the organic carbon fraction (strongly correlated to sediment grain size) appeared as a more important controlling factor than distance from upstream sources for medium- to long-chain PFASs.

Introduction

In the global context of anthropogenically-induced changes, the dissemination of persistent organic pollutants (POPs) in natural environments, which may pose threats to human health and wildlife, has emerged as a major issue in the last 50 years. Halogenated organic compounds such as organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) have garnered special attention due to their persistent, bioaccumulative and toxic characteristics (PBT), leading to international efforts to ban or reduce their production and uses since the 1970s [1]. While legacy POPs are still under close scrutiny of environmental monitoring programs, the past two decades have also witnessed the identification of POPs of emerging concern, including poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs).

PFASs are synthetic fluorosurfactants that have been produced since the 1950s and that have catered to requirements of industrial processes, high-tech applications, and consumer goods [2, 3]. Despite early observations of perfluorooctanoate (PFOA) in workers from fluorochemical facilities [4] or initial evidence of toxicity on rats exposed to PFOA [5,6], it was not until 2001 that the global extent of PFAS distribution was established [7]. Since then, environmental research on PFASs has been extensive, with a special focus on perfluoroalkyl sulfonates (PFSA) and perfluoroalkyl carboxylates (PFCA), either used in the industry for decades or resulting from the degradation of numerous fluoroalkylated precursors [8–10]. Long-chain PFSA and PFCA are of particular concern, being candidates for classification as very persistent and very bioaccumulative (vPvB), as set out in annex XIII of REACH (www.reachonline.eu/REACH/EN/REACH_EN/articleXIII.html). In addition, these compounds may biomagnify in food webs [11, 12]. PFASs have been identified as ubiquitous contaminants, found even in areas remote from human activities such as the Amazonian rain forest [13], polar regions [14, 15], and global oceans [16, 17]. Taken together, these findings strongly suggest potential for long-range transport (LRT), which may occur via both atmospheric transport [18] and global oceanic circulation [19].

In contrast to most POPs, PFASs are amphiphilic compounds; this implies that models traditionally used for POPs (e.g., relying on descriptors such as the octanol-water partitioning coefficient, K_{ow}) cannot be used to predict the environmental fate of ionic PFASs, thus warranting field or laboratory studies. Sorption of PFCA and PFSA onto sediment or suspended particulate matter (SPM) has been shown to correlate with perfluoroalkyl chain length [20–23]. Factors reported to influence the water-sediment distribution coefficient of PFASs include solution-specific parameters such as salinity [24–26], dissolved organic matter [24] or pH [27], and sorbent-specific properties such as grain-size, organic carbon content [20, 24, 27–30], black carbon content [31], and total basicity or pore-size [32]. In transitional waters such as estuaries, wide fluctuations of such parameters may occur both temporally and spatially. In addition, suspended particles can play a significant role in estuarine biogeochemistry cycles [33], for instance through adsorption/desorption hysteresis of contaminants [34, 35]. Removal of contaminants from the water column may be enhanced at neap tides (low current velocities) as coarser particles settle on the bed sediment, while the resuspension of sediment by

upcoming tides may contribute to their partial resupply through pore-water liberation [36, 37]. In addition, the sharp increase in salinity is expected to produce “salting-out” effects (decrease in aqueous solubility with increasing ionic strength) [38, 39].

The question whether PFASs may be scavenged along the salinity gradient of a macrotidal highly turbid estuary is crucial to better understand their transport at the land-sea interface. The present survey was conducted in the Gironde (SW France), a highly turbid estuary of great ecological significance. A variety of diadromous fish spend part of their lifecycle in its brackish waters [40, 41], especially first juvenile stages that may be particularly vulnerable to environmental pollutions. PFAS inputs to the estuary essentially originate from upstream sources (i.e. Toulouse and Bordeaux conurbations) and not from smaller tributaries in the estuarine area (data not shown), which provides the opportunity to investigate the environmental fate of PFASs through the salinity and turbidity gradient, while minimizing confounding PFAS lateral inputs. The purpose of the present work was thus three-fold: (i) to document the spatial distribution of PFASs levels and profiles in subsurface and bottom water (dissolved phase and SPM) as well as in subtidal sediments and intertidal mudflats from the Gironde estuary; (ii) to investigate PFAS environmental fate in the water column of a macrotidal estuary through the calculation of $\text{Log } K_D$ and $\text{Log } K_{OC}$ partitioning coefficient and modelling of the latter combining salting-out and particle-concentration effects; and iii) to extend and deepen our knowledge of the factors controlling PFAS sediment levels.

Experimental

Chemicals

A full list of chemicals and solvents is enclosed in the Supporting Information (SI). Certified PFAS native compounds ($n = 27$) and isotope-labeled internal standards (ISs) ($n = 14$) were all acquired from Wellington Laboratories (BCP Instruments, Irigny, France) (chemical purity > 98 % and isotopic purity > 94 %). The native PFASs purchased included PFCAs (PFBA, PFPeA, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDODA, PFTrDA, PFTeDA), PFASs (PFBS, PFHxS, PFHpS, linear PFOS (L-PFOS) and PFDS), perfluorooctane sulfonamide (FOSA) and its N-alkylated derivatives (MeFOSA, EtFOSA), perfluorooctane sulfonamide acetic acids (MeFOSAA, EtFOSAA), polyfluoroalkyl sulfonates (FTSAs) (4:2 FTSA, 6:2 FTSA, and 8:2 FTSA), and polyfluoroalkyl phosphate diesters (diPAPs) (6:2 diPAP, 8:2 diPAP). In the case of PFOS branched isomers (Br-PFOS), the concentrations were calculated from the calibration curve used for L-PFOS [30]. Note that, in this paper, the total of linear (L-PFOS) and branched (Br-PFOS) isomers is coined as “PFOS”. $^{13}\text{C}_2$ -PFHxA, $^{13}\text{C}_4$ -PFOA, $^{13}\text{C}_2$ -PFDA, $^{13}\text{C}_2$ -PFUnDA, $^{13}\text{C}_2$ -PFDODA, $^{13}\text{C}_2$ -PFTeDA, $^{18}\text{O}_2$ -PFHxS, $^{13}\text{C}_4$ -PFOS, D_3 -N-MeFOSAA, $^{13}\text{C}_8$ -FOSA, D_3 -N-MeFOSA, D_5 -N-EtFOSA, $^{13}\text{C}_2$ -6:2 FTSA and $^{13}\text{C}_4$ -6:2 diPAP were used as ISs. Analyte name, acronym, structure and corresponding IS are provided in the SI (Tables S1 and S7-S8).

Study Site and Sampling Strategy

The Gironde estuary originates at the junction of the Garonne and Dordogne rivers at Bec d'Ambès (~ 1.6 km wide), widens gradually in a northwestward direction (> 10 km wide just before the mouth), and opens into the ocean near Le Verdon (SI **Fig.S1**). Flowing over nearly 80 km and covering approximately 625 km² at high tide, the Gironde estuary is often described as the largest in Western Europe. The hydrology and geochemistry of the Gironde have been well-documented in earlier studies [42–46]. The Gironde is a macrotidal estuary (tidal amplitude: 1.5–5 m at the mouth), characterized by a fairly permanent maximum turbidity zone (MTZ) (SPM > 1 g L⁻¹) stretching over several tens of km. Its estimated mean annual flow rate is 760 m³ s⁻¹ and the residence time of water typically ranges between 1–3 months. The exportation of particulate material into the adjacent continental shelf occurs rather discontinuously, as a result of exceptional flood events. Hence, suspended particles remain typically between 1–2 years within the MTZ [47]. Historical metallic contamination has been established in a series of studies, especially cadmium [48]. To date, the occurrence of POPs in the Gironde estuary has only been documented in a few surveys [49, 50].

The HALOGIR sampling campaign took place in early September 2014 (3rd–7th) aboard the Côtes de la Manche research vessel. In order to account for potential transversal variations, the sampling strategy consisted in a series of orthogonal transects following a general South-to-North salinity gradient, totalling 18 sampling locations from transects T#1 to T#7 (SI **Fig.S2**) (see also SI **Table S2**). A fine sediment deposition area (T#8), located approximately 50 km West to the mouth of the estuary [51], was also included in our survey to perform preliminary assessment of the PFAS transfer from the Gironde estuary to the Bay of Biscay continental shelf. At each sampling location, subsurface (1 m below surface) and bottom water (1 m above surficial sediments) samples were collected with a Niskin bottle. Sample temperature, pH and salinity were measured immediately, prior to on-board filtration through GF/F (0.7 µm) filters using Nalgene® polyethylene filtration units. The filtrate was divided into two aliquots stored in high density polyethylene (HDPE) bottles, kept at -20°C until analysis; filters were stored at -20°C in aluminum trays until freeze-drying and analysis. In the case of dissolved organic carbon (DOC) and particulate organic carbon (POC), the filtration of water was performed on glass filtration units, and samples were then processed as described elsewhere [52, 53]. Composite bottom sediment samples (n = 21) were collected with a Shipeck sediment grab sampler. In parallel, 13 additional composite bed sediment samples were collected at low tide across tidal mudflats, on both banks of the estuary (SI **Fig.S2**) (see also SI **Table S2**). Sediment characteristics were determined by the Laboratoire d'Analyses des Sols d'Arras (INRA). Grain size, organic carbon and organic nitrogen content were determined according to methods NF X 31-107, NF ISO 10694 and NF ISO 13878, respectively. Black carbon and iron oxides were both determined using in-house methods (see <https://www6.lille.inra.fr/las/Methodes-d-analyse/Sols> for further details).

PFAS analysis

Analytes were quantified using the isotopic dilution method, ISs being gravimetrically added to the samples and procedural blanks at the beginning of the extraction procedure. Full details on extraction and purification procedures are described elsewhere [30]. Briefly, water samples (0.5–1 L) were concentrated using solid phase extraction on Strata X-AW cartridges; freeze-dried sediment (1–2 g) and SPM (0.055–2.5 g) samples underwent a microwave extraction with 10 mL of MeOH (10 min, 70°C) prior to ENVI-Carb graphite clean-up. Extracts were concentrated to 300 μ L (N_2 , 42°C), transferred to polypropylene injection vials, and stored at -20°C until analysis.

Procedural blanks consisted of 500 mL of Vittel spring water and of 10 mL of MeOH for solid samples. When analytes were found in procedural blanks (SI **Table S3**), data were blank-corrected and the limit of detection (LOD) was determined as the standard deviation (SD) of the blanks multiplied by the $t_{n-1,95}$ Student coefficient [30]. Otherwise, LODs were determined from the signal-to-noise ratio in low contaminated samples or in spiked matrices. LODs were in the range 0.0002–0.5 ng L⁻¹, 0.002–0.2 ng g⁻¹ dw and 0.001–0.03 ng g⁻¹ dw for water, SPM and sediment samples, respectively (SI **Table S4**). Recovery rates were controlled through the analysis of fortified Vittel spring water (n = 4) and Fontainebleau sand samples (surrogate for solid samples) (n = 4), spiked at 1 ng L⁻¹ or 1 ng g⁻¹ dry weight (dw) with target analytes, respectively, and were generally in the range 50–90 % (SI **Table S5**). Accuracy rates were also evaluated, and averaged 104 \pm 15 % in water and 96 \pm 4 % in solid samples for the compounds considered (SI **Table S6**).

PFAS chemical analyses were performed with an Agilent 1290 LC system interfaced with an Agilent 6490 triple quadrupole mass spectrometer (Agilent Technologies, Massy, France). Chromatographic conditions are described elsewhere [30] and mass spectrometry acquisition parameters are provided in the SI (**Tables S7-S8**).

Statistics

Statistical significance was set as $p < 0.05$. Statistical tests and hierarchical clustering were performed with the R statistical software (R version 2.15.3, R Core Team, 2013). In view of the presence of non-detects (data < LOD), functions from the “NADA” R-package was used to perform correlation and regression analyses [30]. Note that compounds displaying more than 80 % censored observations were not included in these analyses, since tenuous statistics may be obtained above this threshold [54].

Results and Discussion

Water Quality Parameters and Hydrology

The evolution of water physicochemical parameters is shown in the SI (**Fig.S3**). Salinity increased from 2.1–2.3 ‰ at Bec d'Ambès (T#1) to 24.1–27.9 ‰ near the mouth (T#7). Suspended solids exhibited wide variations (14–2,600 mg L⁻¹), the highest loads being found in the T#3–T#5 area where the SPM concentration averaged 320 mg L⁻¹ in subsurface water and 1,450 mg L⁻¹ near the bottom. Samples from transect T#8 exhibited the general characteristics of marine environments (salinity: 32.9 ± 0.4 ‰; SPM load < 40 mg L⁻¹). Particulate organic carbon (POC) and suspended solid loads were linearly correlated ($R^2 > 0.998$), indicating that the organic carbon fraction (f_{oc}) was relatively constant over the salinity gradient (SI **Fig.S4**). Dissolved organic carbon remained steadily at around 1.50 ± 0.11 mg L⁻¹ in the oligohaline to mesohaline area (T#1–T#5), decreased to 1.20 ± 0.14 mg L⁻¹ in the polyhaline zone (T#6–T#7), and below 1 mg L⁻¹ offshore (T#8). Over the sampling time, water flow rate, estimated as the combined discharges of the Garonne river at Tonneins and the Dordogne river at Pessac-sur-Dordogne (data retrieved from <hydro.eaufrance.fr>), remained in the narrow range 280–289 m³ s⁻¹, conditions typical of summer low-flow periods.

Spatial Variations of PFAS Levels and Profiles

Full details on detection frequencies and concentration ranges of individual PFAS compounds in sediment, dissolved phase and SPM samples are provided in **Table S9** of the SI.

The highest PFAS level in sediment was that of PFOS (detection frequency = 100 %; mean = 0.43 ng g⁻¹ dw; median = 0.47 ng g⁻¹ dw), accounting for 30 ± 5 % on average of ΣPFASs. Of these, an estimated 93 % were attributed to the sole linear isomer, in excellent agreement with observations at French nationwide scale (88 %) [30]. PFOA, PFNA and PFDA were also frequently detected (88–100 %), and represented 11, 7.5, and 12 % of ΣPFASs on average, respectively. In contrast, PFASs of emerging concern such as FTSA or diPAPs were only sporadically reported in these sediments (detection frequencies < 21 %). The spatial distribution of ΣPFASs in sediment samples is illustrated in **Fig.1a**. ΣPFASs in subtidal sediments was highly variable (range: 0.11–2.2 ng g⁻¹ dw; mean = 1.0 ± 0.7 ng g⁻¹ dw), while sediments from intertidal mudflats exhibited relatively high PFAS levels on both left and right banks (ΣPFASs range: 1.2–3.3 ng g⁻¹ dw; mean ΣPFASs = 2.3 ± 0.7 ng g⁻¹ dw).

Hierarchical clustering on PFAS profiles in sediments (Ward's method, break in set at 4 clusters), resulted in clusters of size 12, 5, 9 and 8 (**Fig.1b**). Cluster #01 grouped sites with high relative abundances of C₄–C₆, C₇–C₈ and C₉–C₁₁ PFCAs (each group representing ~ 20 % of ΣPFASs) and essentially comprised intertidal sediments and upstream subtidal sediments. Cluster #02 grouped subtidal sediments from the seaward end (T#7) and offshore mudpatches (T#8) that maintained a high relative abundance of PFCAs (> 60 % of ΣPFASs) but differed from cluster #01 by the higher proportion of medium to long-chain PFCAs (C₉–C₁₃) compared to shorter-chain homologues. This

suggests a sharp decrease of short-chain PFCA relative abundances in sediments when approaching the marine area, while those of C₉–C₁₃ PFCAs may remain comparatively high as a result of salting out, a phenomenon which tends to be more pronounced with increasing perfluoroalkyl chain length under controlled conditions [55]. A similar upstream/downstream fractionation was observed for intertidal sediments, the C₄–C₆ to C₉–C₁₃ ratio dropping > 5-fold between Bayon-sur-Gironde (farther upstream right-bank site) and Talmont-sur-Gironde (farther downstream right-bank site), which seems to corroborate this hypothesis (SI **Fig.S5**). Clusters #03 and #04 were characterized by higher abundances of PFOS and/or precursors, and mostly represented subtidal sediments from transects T#3 through T#6, all located in the MTZ.

In the water column (dissolved phase + SPM), Σ PFASs ranged between 0.26–9.3 ng L⁻¹ and 0.11–14 ng L⁻¹ for subsurface and bottom water samples, respectively, and showed a general downstream/upstream gradient, Σ PFASs decreasing linearly with increasing salinity as a result of dilution (SI **Fig.S6**). Negative linear trends ($R^2 = 0.64$ – 0.92) were also observed between individual compounds in the water column and salinity (data not shown). On average, PFOS was the predominant compound in the water column (33 ± 5 % and 34 ± 8 % of Σ PFASs for subsurface and bottom water samples, respectively). The concentrations of PFASs in the dissolved phase and SPM of subsurface and bottom water samples along the salinity gradient are shown in **Fig.2**. In the dissolved phase, Σ PFASs ranged between 0.077–8.3 ng L⁻¹, with individual analytes generally found in the sub ng L⁻¹ range (see also SI **Table S9**). Abundance profiles remained essentially the same along the salinity gradient (**Fig.2a** and **2b**). Br-PFOS was the prevalent compound on average, followed by PFHxS, PFHxA and L-PFOS (16 ± 6 , 14 ± 3 , 11 ± 6 and 11 ± 5 % of Σ PFASs, respectively). In the SPM, little fluctuations of PFAS levels were observed in the estuarine area (T#1–T#7), Σ PFASs oscillating between 3.3–10 ng g⁻¹ dw and 2.8–6.1 ng g⁻¹ dw for subsurface and bottom water samples, respectively (**Fig.2c** and **2d**). PFAS levels in SPM of bottom water samples exceeded those in corresponding bed sediment samples by a median ratio (SPM / bed sediment) of 1.6–2.9 for PFCAs and 4.9–6.7 for PFHxS and PFOS. Likewise, median PFAS concentration ratios between the SPM of surface and bottom water samples were in the narrow range 1.1–1.6 and 1.6–2.1 for PFCAs and PFASs, respectively. These contrasting PFAS levels in the SPM are likely a consequence of the segregation of fine and coarse particles along the vertical profile, leading to differences in SPM specific surface area. PFOS was systematically detected in suspended solid samples and accounted for 60 ± 12 % of Σ PFASs on average (L-PFOS = 64 ± 6 % of total PFOS). Equally noteworthy was the occurrence of PFDA and PFOA in the SPM (detection frequency > 95 %), albeit at lower relative abundances (~ 9 % of Σ PFASs each).

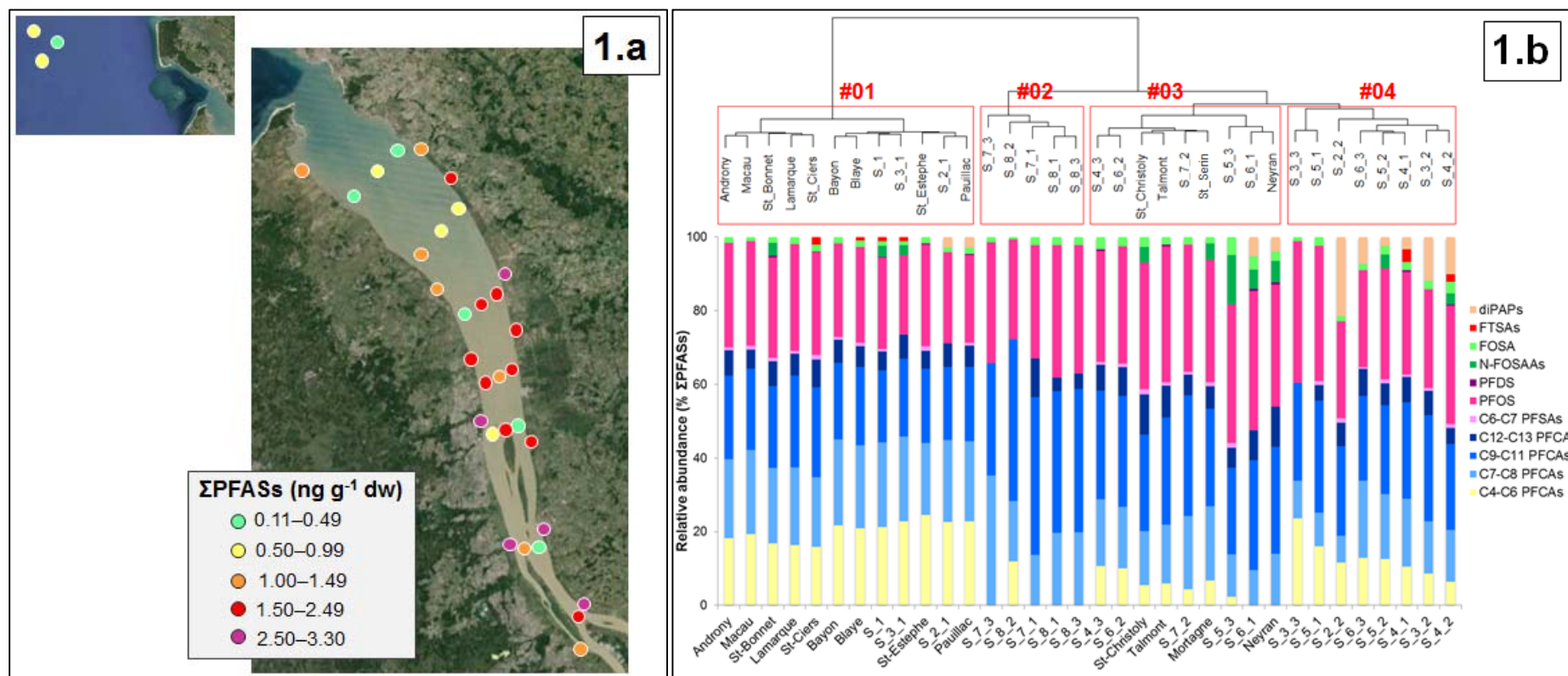


Fig.1. Spatial distribution of PFASs in sediments: cartographical mapping of PFAS sediment levels, color-coded according to ΣPFASs (1.a), and PFAS abundance profiles in sediment samples, arranged through hierarchical clustering (Ward's method) (1.b).

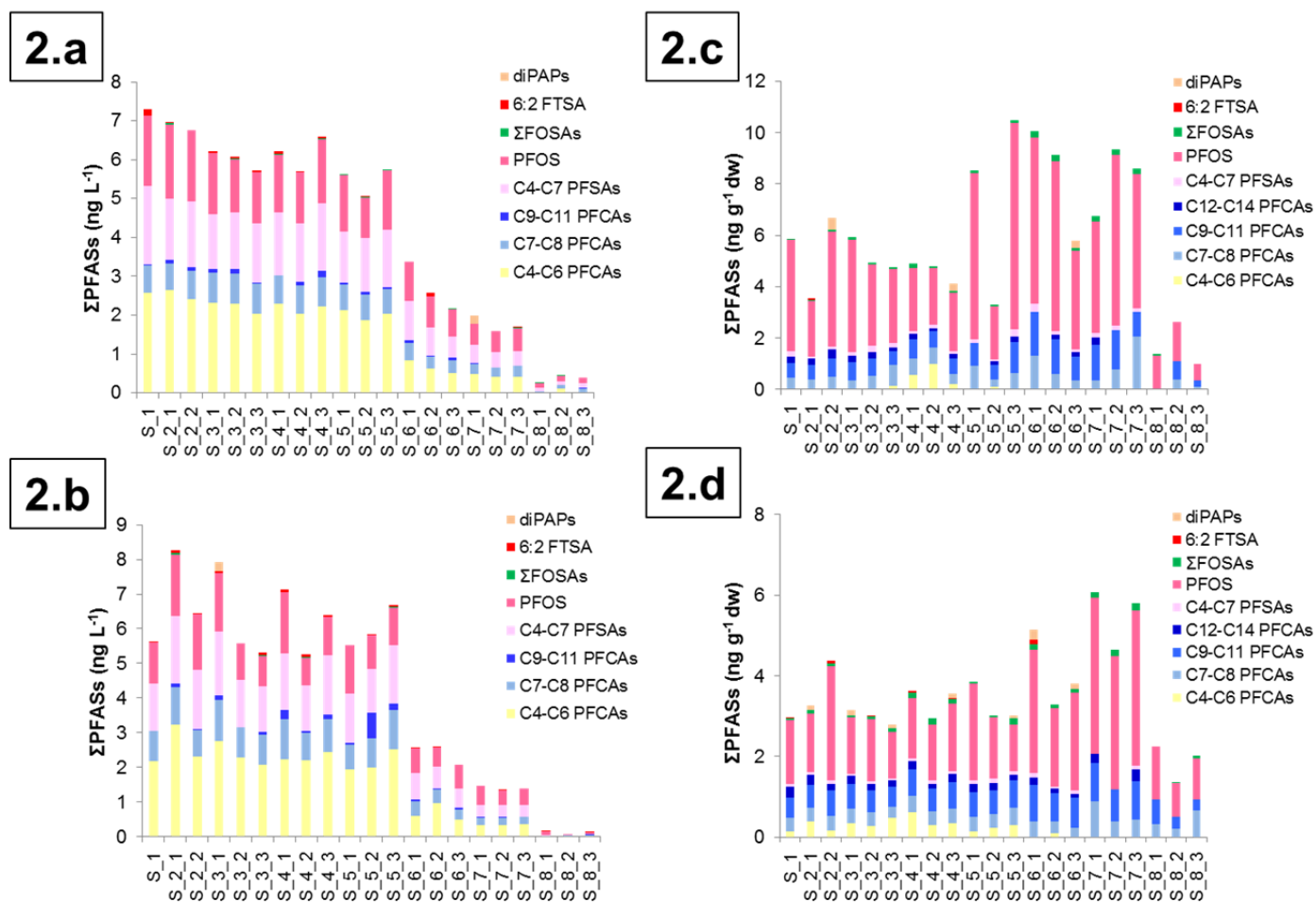


Fig.2. Concentrations and distribution of PFASs in the dissolved phase (**2.a:** subsurface; **2.b:** bottom) and suspended particulate matter (**2.c:** subsurface; **2.d:** bottom) along the salinity gradient. Salinity increases from S_1 (Bec d'Ambès) to S_8 (offshore) (see the SI for location of sampling sites).

Partitioning Behavior in the Water Column

Suspended sediment-water partitioning coefficients (K_D) were calculated as the ratio of the concentration in the SPM (ng kg^{-1}) to that in the dissolved phase (ng L^{-1}), provided that the compound could be determined in both compartments ("matching pairs" method). The suspended sediment-water partitioning coefficient normalized to carbon content (K_{OC}) was derived from the following equation: $K_{OC} = K_D \times 100 / f_{OC}$, where f_{OC} is the sediment organic carbon fraction. Average Log K_D and Log K_{OC} were in the range 1.3–3.8 and 3.2–5.6 for the compounds considered, respectively (**Table 1**). The Log K_D of C_4 – C_8 PFSAAs was linearly correlated to perfluoroalkyl chain length ($R^2 = 0.94$; slope = 0.57 ± 0.10). As regards PFCAs, Log K_D and perfluoroalkyl chain length were also positively correlated from PFHpA to PFUnDA ($R^2 = 0.93$; slope = 0.31 ± 0.05), the regression line yielding a slope in the same order of magnitude than values from Labadie and Chevreuil [21] or Kwadijk et al. [29]. Shorter-chain PFCAs (C_4 – C_6) differed from this trend, average Log K_D remaining in the same range as that of PFHpA. This is consistent with previous observations that short-chain PFCAs do not follow the typical chain-length dependency as regards sorption to sediments [21, 56].

The PFAS particle-related fraction (ϕ) was determined as the ratio of the concentration in the SPM (ng L^{-1}) to the total PFAS concentration in the water (dissolved + SPM, ng L^{-1}). On average, ϕ was in the range 18–80 % and 1.3–43 % for C_4 – C_{11} PFCAs and C_4 – C_8 PFSAAs, respectively (**Table 1**). The spatial evolution of ϕ along transects T#1 through T#8 is illustrated in **Fig.3**. ϕ increased concomitantly with the suspended solid load, following a peak-shape curve with maximum values within the estuarine MTZ.

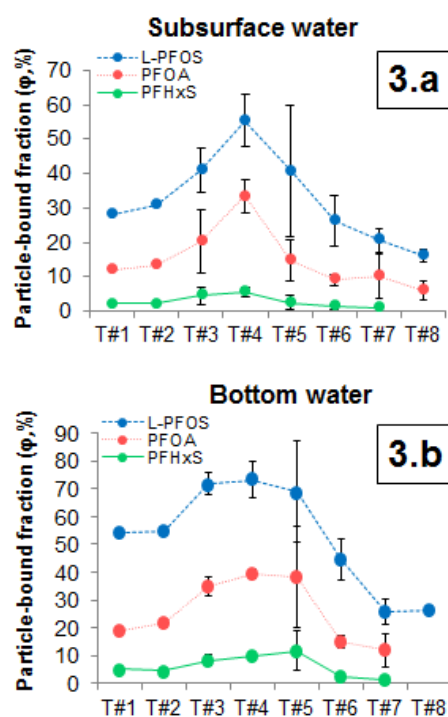


Fig.3. Evolution of the PFAS particle-associated fraction (ϕ , %) ($C_{SPM} / C_{\text{water column}}$) along transect zones T#1 through T#8 in subsurface (**3.a**) and bottom (**3.b**) water samples, illustrated for PFHxS, PFOA and L-PFOS (see the SI for location of sampling sites).

Table 1. Partitioning behavior in the water column: water-suspended particle partitioning coefficients Log K_D and Log K_{oc} (mean \pm SD) (n_{mp} : number of matching pairs used in the calculation of the latter), particle-associated fraction (Φ , %) (mean \pm SD and min–max), and estimates of freshwater partitioning (K_D°) and adsorption salting constants (δ and associated standard error (SE)).

	Log K_D	Log K_{oc}	n_{mp}	Φ (%)		K_D° (L kg ⁻¹)	δ (SE(δ)) (L mol ⁻¹)
PFBA	2.5 \pm 0.3	4.3 \pm 0.3	3	23 \pm 6	17–30	NC*	NC
PFPeA	2.4 \pm 0.1	4.2 \pm 0.2	18	18 \pm 9	4–33	NS**	NS
PFHxA	2.4 \pm 0.1	4.2 \pm 0.2	11	24 \pm 7	14–34	NS	NS
PFHpA	2.6 \pm 0.2	4.5 \pm 0.3	21	21 \pm 11	6–44	296	1.89 (0.67)
PFOA	3.1 \pm 0.4	5.0 \pm 0.5	38	21 \pm 13	4–53	430	2.61 (0.60)
PFNA	3.5 \pm 0.5	5.4 \pm 0.5	27	41 \pm 20	14–82	1737	1.79 (0.47)
PFDA	3.7 \pm 0.1	5.5 \pm 0.1	7	80 \pm 14	57–95	NC	NC
PFUnDA	3.8 \pm 0.1	5.6 \pm 0.1	12	74 \pm 17	45–93	NS	NS
PFBS	1.3 \pm 0.2	3.2 \pm 0.3	5	1 \pm 1	0.4–3	NC	NC
PFHxS	2.2 \pm 0.3	4.1 \pm 0.3	34	5 \pm 4	0.9–17	85	1.86 (0.26)
PFHpS	2.6 \pm 0.3	4.5 \pm 0.4	16	21 \pm 11	4–43	308	2.21 (0.43)
Br-PFOS	3.3 \pm 0.4	5.2 \pm 0.5	42	26 \pm 15	9–58	945	1.82 (0.27)
L-PFOS	3.7 \pm 0.4	5.6 \pm 0.5	40	43 \pm 20	15–82	2169	1.84 (0.22)
FOSA	3.4 \pm 0.3	5.3 \pm 0.3	8	53 \pm 23	20–88	NS	NS
MeFOSA	2.6	4.5	2	27	26–28	NC	NC
6:2 FTSA	3.0 \pm 0.5	4.9 \pm 0.5	6	37 \pm 8	23–45	NC	NC

*NC: not calculated (number of matching pairs < 20 %). **NS: not significant ($p > 0.05$).

Particle-concentration effect and salting-out influence on PFAS partitioning

The influence of environmental parameters on the suspended solid-water partitioning coefficient (K_D) was investigated. Note that water samples from the intra-estuary zone only (i.e. transects T#1 through T#7) were considered to this end. K_D was negatively correlated with SPM; the decrease in K_D was especially sharp when suspended solids varied in the range $< 0.02 - 0.5 \text{ g L}^{-1}$, and remained constant for higher SPM loads ($> 1 \text{ g L}^{-1}$), akin to observations under controlled conditions by Ahrens et al. [57] who reported little variation in Log K_D coefficients for SPM loads between 1 and 100 g L^{-1} . A power function fitting was used to describe the decrease of K_D with increasing suspended solid concentration in water ($K_D = a\text{SPM}^b$) (where a and b are numerical constants > 0), following empirical models established for other organic contaminants [38]. An illustration is provided in **Fig.4** and full details are given in the SI (**Table S10**). In addition to the particle-concentration effect, salinity has also been reported as an influential controlling factor of organic compound sorption to sediments, including PFASs [24–26, 58]. K_D was related to salinity (S , mass basis) through a “salting out” constant (σ_{ads}^* , L g^{-1}) using the following model: $K_D = K_D^\circ \times \exp(2.303 \sigma_{\text{ads}}^* S)$, with K_D the relative solubility in saline water and K_D° that extrapolated in freshwater (**Fig.4**). The conversion to a salting constant on a molar basis (δ , L mol^{-1}) can be completed as per Turner and Rawling [38]. δ was in the range 1.79–2.61 for the compounds considered (**Table 1**), in line with field-derived values by Hong et al. [25] in the Youngsan and Nakdong river estuaries (South Korea) ($\text{SPM} = 8.1\text{--}130 \text{ mg L}^{-1}$; salinity = $0.12\text{--}29 \text{ ‰}$; $\delta = 1.34\text{--}2.57 \text{ L mol}^{-1}$). Overall, the K_D° values reported in the present study are also in good agreement with average freshwater-sediment K_D coefficients determined for 133 rivers and lakes [30].

In an attempt to combine the particle-concentration effect and salinity dependence, the following model was used: $K_D = a\text{SPM}^b \times \exp(2.303 \sigma_{\text{ads}}^* \times S)$, wherein the particle-concentration effect (magnitude of b) is assumed to be independent of salinity [38]. This expression can be readily transformed to $\ln K_D = k_0 + k_1 X_1 + k_2 X_2$, where $X_1 = \ln(\text{SPM})$ and $X_2 = S$. A multiple linear regression model was fitted to the data set to derive therefrom $a = \exp(k_0)$, $b = -k_1$, and $\sigma_{\text{ads}}^* = k_2/2.303$, and the model proved significant for 8 compounds (see SI Table S11 for details). The model was then validated using a previously acquired data set (2012–2013) during a temporal follow-up of PFASs at Pauillac, a sampling station located in the oligohaline zone of the estuary [23]. Predicted Log K_D values yielded by the model from the HALOGIR 2014 survey were in overall reasonable agreement with field data from the 2012-2013 survey (SPM range: 132–1916 mg L^{-1} ; salinity range: 0–11.6 ‰), in spite of the wide variation in water flow rate (251–1847 $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) compared to those from the present study (280–289 $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) (SI Fig.S7).

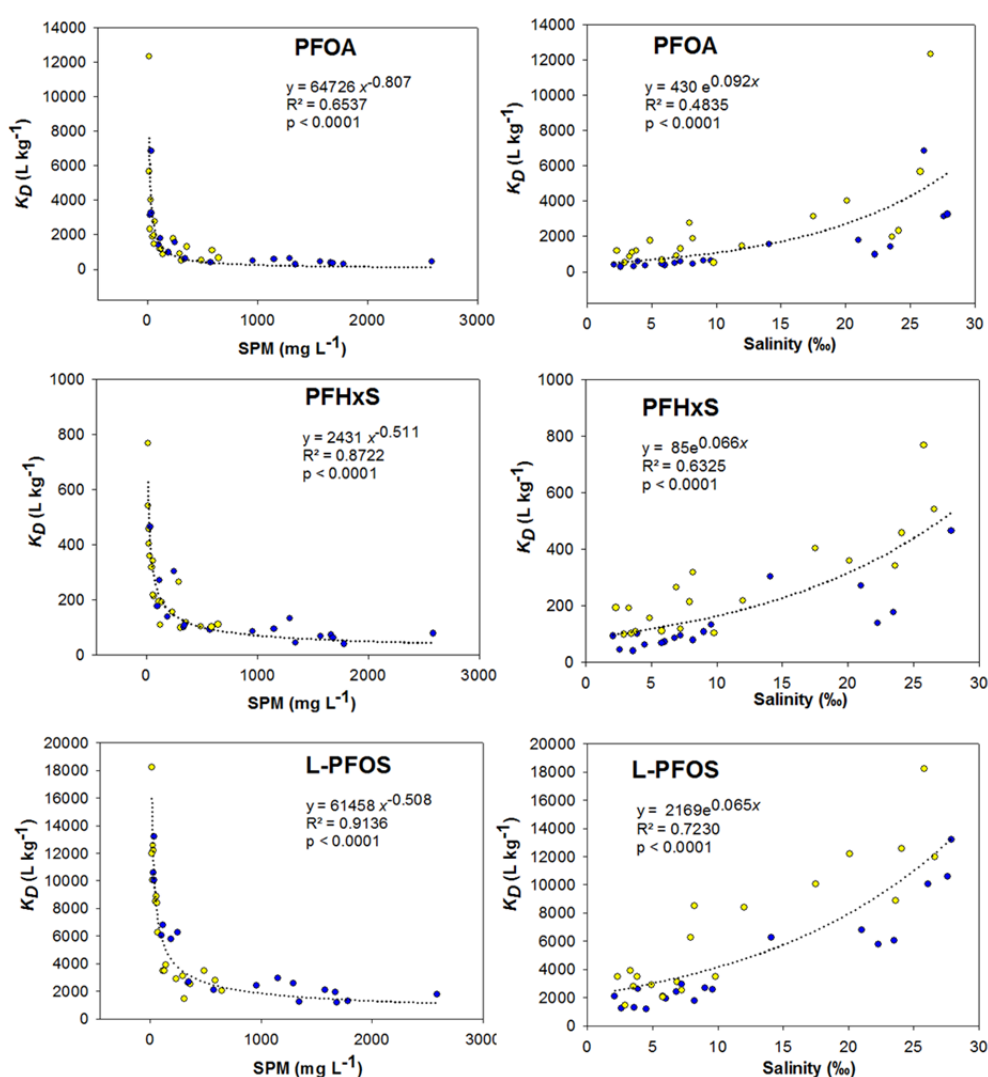


Fig.4. Influence of water characteristics on the water-SPM partitioning coefficient (K_D) (L kg⁻¹) illustrated for selected PFASs. Relationship (R^2) between the suspended solid concentration in water (SPM, mg L⁻¹) and K_D (left), and between salinity (‰) and K_D (right). K_D values are identified according to position in the water column: subsurface (yellow) or bottom (blue).

Spatial and Physico-chemical Factors Underlying Sediment Levels

PFAS analytes with censoring percentages > 80 % were not considered in the present section [30]. In addition to spatial considerations (e.g., distance from nearest upstream sources located in the Bordeaux conurbation), PFAS sediment levels may be influenced by a variety of sediment-specific characteristics. A strong collinearity was observed between the fine fraction content (mass percent fraction of the < 20 μm fraction over the < 2 mm fraction) (grain size) and other sediment ancillary data including organic carbon fraction (f_{OC}), organic nitrogen content (NO) or iron oxides (FeOx) ($R^2 = 0.92\text{--}0.98$) (SI Table S12). In contrast, relationships between black carbon content (carbon soot) and sediment grain size or f_{OC} were much weaker ($R^2 < 0.50$). Therefore, the only sediment quality parameters retained in the preliminary correlation analysis were f_{OC} and carbon soot. Significant correlations between PFAS levels in sediments and f_{OC} were observed for 13/14 of the considered compounds with relatively high correlation coefficients (Kendall's $\tau > 0.50$), except for $C_5\text{--}C_7$ PFCAs (Kendall's $\tau = 0.29\text{--}0.44$) (SI Table S13). The highest significance was observed for PFUnDA and L-PFOS (Kendall's $\tau = 0.65\text{--}0.71$), the slope of the *cenken* regression amounting to 1.2 and 4.2, respectively, of the same magnitude than previous observations at French nationwide scale [30]. Significant correlations were also observed for 14/14 of the considered compounds when examining PFAS levels in sediments and carbon soot, albeit with lower Kendall's τ correlation coefficients (0.35–0.45 for most compounds) (SI Table S14). Overall, these results provide further evidence that under estuarine conditions PFASs are mainly associated with fine-grained sediment exhibiting higher organic carbon content (as well as iron oxides in our case); black carbon content also appeared as a significant factor, yet less predominant than f_{OC} .

The combined influence of f_{OC} (X_1) and distance from upstream sources (X_2) (arbitrarily set at zero for sampling site T#1) on PFAS levels in the sediment (Y) was assessed via multiple regression with a specific statistical treatment for non-detects [54]. The following model was used: $\ln(1 + Y) = \alpha + \beta X_1 + \gamma X_2$, via the *cenreg* function from the NADA R-package. With the exception of EtFOSAA, the model was significant for all the compounds considered, with high likelihood correlation coefficients (Loglik-R = 0.60–0.92) (SI Table S15). Significant coefficients were near-systematically observed for X_1 and X_2 , β and γ having opposite signs as anticipated. The relative importance of β and γ varied according to perfluoroalkyl chain length, f_{OC} being a more important controlling factor than distance from upstream sources for $C_8\text{--}C_{13}$ PFCAs and L-PFOS, while these two factors were of nearly equal weight for $C_5\text{--}C_7$ PFCAs, PFHxS and Br-PFOS (SI Table S15).

Significance

The spatial distribution and partitioning behavior of PFASs were investigated along a salinity/turbidity gradient in a macrotidal estuary. PFASs were found ubiquitously in this hydrosystem, albeit at relatively low levels since ΣPFASs remained < 14 ng L⁻¹ in the water column and < 3.3 ng g⁻¹ dw in the sediment. Short-chain PFCAs and PFSAAs were dominant in the dissolved phase, while L-PFOS generally prevailed in sediments, in overall excellent agreement with PFAS patterns usually observed

in hydrosystems [8, 30]. Besides the intrinsic hydrophilic properties of C₄–C₆ PFCAs, the relatively high abundance of these compounds in the dissolved phase could be attributed to recent shifts in PFAS production toward shorter-chain congeners due to the gradual phase-out of C₈-based PFAS chemistries [59]. In addition, C₄–C₆ PFCAs could also result from the degradation of precursors [10].

Sediment organic carbon fraction (highly correlated to grain-size and other sediment quality parameters) appeared as the primary controlling factor of PFAS levels in the sediment, while the distance from upstream sources seemed less critical. On average, ΣPFASs in the SPM was ~ 10 times greater than that of bed sediments. Thus, given the relatively high suspended solid loads in the MTZ (up to 2600 mg L⁻¹) and spatial extent of the latter (> 10 km), ingestion of suspended sediment could be a key PFAS exposure pathway for both benthic (sediment-dwelling) and pelagic biota in highly turbid estuaries.

Water-suspended sediment partitioning of PFASs appeared tightly influenced by suspended solid loads and salinity. Hence, seasonal variations in the MTZ position are expected to exert a strong influence on PFAS retention, sequestration being likely enhanced when the MTZ is located near the seaward end of the estuary due to salting-out [60]. Empirical modeling of *K_D* integrating both particle-concentration and salinity effect, as performed in this study, provides a first step toward numerical simulation of PFASs environmental fate in transitional waters, with an aim at predicting mass budgets at the land–sea interface [61].

Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge the crew from the research vessel *Côtes de la Manche* (CNRS/INSU), as well as the following colleagues for their contribution to field work and analytical support: Gwenaél Abril, Hervé Derriennic, Mathilde Lauzent, Riccardo Massei, Clara Michaud, Patrick Pardon, Edith Parlanti and Dominique Poirier. This study has been carried out with financial support from the French national Agency (ANR), in the frame of the ‘Investments for the Future’ programme, within the Cluster of Excellence COTE (ANR-10-LABX-45). IdEx Bordeaux (ANR-10-IDEX-03-02) provided the PhD grant allocated to G. Munoz. The authors also acknowledge funding from CNRS (EC2CO-Ecodyn INSU) and ORQUE SUDOE (SOE3/P2/F591), as well as the Aquitaine Regional Council and the European Union (CPER A2E project). Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund (FEDER).

References

- [1] Muir, D.C.G., Howard, P.H., **2006**. Are there other persistent organic pollutants? A challenge for environmental chemists. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7157–7166.
- [2] Buck, R.C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J.M., Cousins, I.T., De Voogt, P., **2011**. Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: terminology, classification and origins. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 7, 513–541.
- [3] Krafft, M.P., Riess, J.G., **2015**. Selected physicochemical aspects of poly- and perfluoroalkylated substances relevant to performance, environment and sustainability – Part one. *Chemosphere* 129, 4–19.
- [4] Ubel, F.A., Sorenson, S.D., Roach, D.E., **1980**. Health status of plant workers exposed to fluorochemicals: A preliminary report. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 41, 584–589.
- [5] Olson, C.T., Andersen, M.E., **1983**. The acute toxicity of perfluorooctanoic and perfluorodecanoic acids in male rats and effects on tissue fatty acids. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 70, 362–372.
- [6] Kennedy, G.L., **1987**. Increase in mouse liver weight following feeding of ammonium perfluorooctanoate and related fluorochemicals. *Toxicol. Lett.* 39, 295–300.
- [7] Giesy, J.P., Kannan, K., **2001**. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environ. Sci. Technol.* 35, 1339–1342.
- [8] Ahrens, L., **2011**. Polyfluoroalkyl compounds in the aquatic environment: a review of their occurrence and fate. *J. Environ. Monit.*, 13, 20–31.
- [9] Houde, M., De Silva, A.O., Muir, D.C.G., Letcher, R.J., **2011**. Monitoring of Perfluorinated Compounds in Aquatic Biota: An Updated Review. *Environ. Sci. Technol.* 45, 7962–7973.
- [10] Liu, J., Mejia-Avendaño, S., **2013**. Microbial degradation of polyfluoroalkyl chemicals in the environment: A review. *Environ. Int.* 61, 98–114.
- [11] Martin, J.W., Whittle, D.M., Muir, D.C.G., Mabury, S.A., **2004**. Perfluoroalkyl Contaminants in a Food Web from Lake Ontario. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5379–85.
- [12] Houde, M., Bujas, T.D., Small, J., Fair, P., Bossart, G.D., Solomon, K., Muir, D.C.G., **2006**. Biomagnification of perfluoroalkyl compounds in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) food web. *Environ. Sci. Technol.* 40, 4138–4144.
- [13] Munoz, G., Labadie, P., Botta, F., , Lestremay, F., Lopez, B., Geneste, E., Pardon, P., Dévier, M.H., Budzinski, H. Occurrence and fate of poly and perfluoroalkyl substances (PFASs) in groundwater, surface water, and sediments from tropical environments: a case-study in Overseas France. Submitted to *Sci. Total Environ.*
- [14] Butt, C.M., Berger, U., Bossi, R., Tomy, G.T., **2010**. Levels and trends of poly- and perfluorinated compounds in the arctic environment. *Sci. Total Environ.* 408, 2936–2965.
- [15] Llorca, M., Farré, M., Tavano, M.S., Alonso, B., Koremblit, G., Barceló, D., **2012**. Fate of a broad spectrum of perfluorinated compounds in soils and biota from Tierra del Fuego and Antarctica. *Environ. Pollut.* 163, 158–166.
- [16] Ahrens, L., Barber, J.L., Xie, Z., Ebinghaus, R., **2009**. Longitudinal and latitudinal distribution of perfluoroalkyl compounds in the surface water of the Atlantic Ocean. *Environ. Sci. Technol.* 43, 3122–3127.
- [17] González-Gaya, B., Dachs, J., Roscales, J.L., Caballero, G., Jiménez, B., **2014**. Perfluoroalkylated Substances in the Global Tropical and Subtropical Surface Oceans. *Environ. Sci. Technol.* 48, 13076–13084.
- [18] Ellis, D.A., Martin, J., De Silva, A.O., Mabury, S.A., Hurley, M.D., Sulbaek Andersen, M.P., Wallington, T.J., **2004**. Degradation of fluorotelomer alcohols: a likely atmospheric source of perfluorinated carboxylic acids. *Environ. Sci. Technol.* 38, 3316–3321.
- [19] Yamashita, N., Taniyasu, S., Petrick, G., Wei, S., Gamo, T., Lam, P.K.S., **2008**. Perfluorinated acids as novel chemical tracers of global circulation of ocean waters. *Chemosphere* 70, 1247–1255.
- [20] Ahrens, L., Taniyasu, S., Yeung, L.W.Y., Yamashita, N., Lam, P.K.S., Ebinghaus, R., **2010**. Distribution of polyfluoroalkyl compounds in water, suspended particulate matter and sediment from Tokyo Bay, Japan. *Chemosphere* 79, 266–272.

- [21] Labadie, P., Chevreuil, M., **2011**. Partitioning behavior of perfluorinated alkyl contaminants between water, sediment and fish in the Orge River (nearby Paris, France). *Environ. Pollut.* 159, 391–397.
- [22] Zhang, Y., Meng, W., Guo, C., Xu, J., Yu, T., Fan, W., Li, L., **2012**. Determination and partitioning behavior of perfluoroalkyl carboxylic acids and perfluorooctanesulfonate in water and sediment from Dianchi Lake, China. *Chemosphere* 88, 1292–1299.
- [23] Munoz, G., Babut, M., Lobry, J., Selleslagh, J., Geneste, E., Pardon, P., Budzinski, H., Labadie, P. One-year monitoring of temporal variations and partitioning behavior of poly- and perfluoroalkyl substances between water, suspended particulate matter and biota in a macrotidal estuary: case study on the Gironde. Submitted to *Chemosphere*.
- [24] Jeon, J., Kannan, K., Lim, B.J., An, K.G., Kim, S.D., **2011**. Effects of salinity and organic matter on the partitioning of perfluoroalkyl acid (PFAs) to clay particles. *J. Environ. Monit.* 13, 1803–1810.
- [25] Hong, S., Khim, J.S., Park, J., Kim, M., Kim, W.K., Jung, J., Hyun, S., Kim, J.G., Lee, H., Choi, H.J., Codling, G., Giesy, J.P., **2013**. In situ fate and partitioning of waterborne perfluoroalkyl acids (PFAAs) in the Youngsan and Nakdong River Estuaries of South Korea. *Sci. Total Environ.* 445–446, 136–145.
- [26] Wang, S., Wang, H., Deng, W., **2013**. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) distribution and effect factors in the water and sediment of the Yellow River Estuary, China. *Environ. Monit. Assess.* 185, 8517–8524.
- [27] Higgins, C.P., Luthy, R.G., **2006**. Sorption of Perfluorinated Surfactants on Sediments. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7251–7256.
- [28] Ahrens, L., Yamashita, N., Yeung, L.W.Y., Taniyasu, S., Horii, Y., Lam, P.K.S., Ebinghaus, R., **2009**. Partitioning Behavior of per- and Polyfluoroalkyl Compounds between Pore Water and Sediment in Two Sediment Cores from Tokyo Bay, Japan. *Environ. Sci. Technol.* 43, 6969–6975.
- [29] Kwadijk, C.J.A.F., Korytár, P., Koelmans, A.A., **2010**. Distribution of Perfluorinated Compounds in Aquatic Systems in the Netherlands. *Environ. Sci. Technol.* 44, 3746–3751.
- [30] Munoz, G., Giraudel, J.L., Botta, F., Lestremay, F., Dévier, M.H., Budzinski, H., Labadie, P., **2015**. Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: A French nationwide survey. *Sci. Total Environ.* 517, 48–56.
- [31] Chen, H., Chen, S., Quan, X., Zhao, Y., Zhao, H., **2009**. Sorption of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on oil and oil-derived black carbon: Influence of solution pH and [Ca²⁺]. *Chemosphere* 77, 1406–1411.
- [32] Zhi, Y., Liu, J., **2015**. Adsorption of perfluoroalkyl acids by carbonaceous adsorbents: Effect of carbon surface chemistry. *Environ. Pollut.* 202, 168–176.
- [33] Turner, A., Millward, G.E., **2002**. Suspended particles: their role in estuarine biogeochemical cycles. *Estuar. Coast Shelf Sci.* 55, 857–883.
- [34] Kan, A.T., Fu, G., Tomson, M.B., **1994**. Adsorption/desorption hysteresis in organic pollutant and soil/sediment interaction. *Environ. Sci. Technol.* 28, 859–867.
- [35] Chapman, P.M., Wang, F., Caeiro, S.S., **2013**. Assessing and managing sediment contamination in transitional waters. *Environ. Int.* 55, 71–91.
- [36] Cancino, L., Neves, R., **1999**. Hydrodynamic and sediment suspension modelling in estuarine systems. Part II: Application to the Western Scheldt and Gironde estuaries. *J. Mar. Syst.* 22, 117–131.
- [37] Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., Guérin, F., Masson, M., Robert, S., 2007. Budgets of Mn, Cd and Cu in the macrotidal Gironde estuary (SW France). *Mar. Chem.* 107, 433–448.
- [38] Turner, A., Rawling, M.C., **2001**. The influence of salting out on the sorption of neutral organic compounds in estuaries. *Wat. Res.* 35, 4379–4389.
- [39] Turner, A., **2003**. Salting out of chemicals in estuaries : implications for contaminant partitioning and modelling. *Sci. Total Environ.* 314, 599–612.
- [40] Lobry, J., Mourand, L., Rochard, E., Elie, P., **2003**. Structure of the Gironde estuarine fish assemblages: a comparison of European estuaries perspective. *Aquatic Living Res.* 16, 47–58.
- [41] Selleslagh, J., Lobry, J., N’Zigou, A.R., Bachelet, G., Blanchet, H., Chaalali, A., Sautour, B., Boët, P., **2012**. Seasonal succession of estuarine fish, shrimps, macrozoobenthos and plankton: Physico-chemical and trophic influence. The Gironde estuary as a case study. *Est. Coast. Shelf Sci.* 112, 243–254.

- [42] Allen, G.P., Castaing, P., **1973**. Suspended sediment transport from the Gironde estuary (France) into the adjacent continental shelf. *Mar. Geol.* 14, 47–53.
- [43] Allen, G.P., Salomon, J.C., Bassoullet, P., Du Penhoat, Y., De Grandpré, C., **1980**. Effects of tides on mixing and suspended sediment transport in macrotidal estuaries. *Sedim. Geol.* 26, 69–90.
- [44] Kraepiel, A.M., Chiffolleau, J.F., Martin, J.M., Morel, F.M., **1997**. Geochemistry of trace metals in the Gironde estuary. *Geochim. Cosmochim. Acta* 61, 1421–1436.
- [45] Abril, G., Etcheber, H., Le Hir, P., Bassoullet, P., Boutier, B., Frankignoulle, M., **1999**. Oxic/anoxic oscillations and organic carbon mineralization in an estuarine maximum turbidity zone (The Gironde, France). *Limnol. Oceanogr.* 44, 1304–1315.
- [46] Sottolichio, A., Castaing, P., **1999**. A synthesis on seasonal dynamics of highly-concentrated structures in the Gironde estuary. *C.R. Acad. Sci. Sér. II Fasc.A-Sci. Terre Planètes* 329, 795–800.
- [47] Jouanneau, J.M., Latouche, C., **1981**. The Gironde Estuary, pp.1–115. In Fürchtbauer, H., Lisitzyn, A.P., Millerman, J.D., Seibold, E. [eds.], Contribution to sedimentology 10. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- [48] Lancelot, L., Schäfer, J., Chiffolleau, J. F., Blanc, G., Auger, D., Renault, S., Baudrimont, M., Audry, S., **2011**. Long-term records of cadmium and silver contamination in sediments and oysters from the Gironde fluvial–estuarine continuum—Evidence of changing silver sources. *Chemosphere* 85, 1299–1305.
- [49] Tapie, N., Le Menach, K., Pasquaud, S., Elie, P., Devier, M.H., Budzinski, H., **2011**. PBDE and PCB contamination of eels from the Gironde estuary: From glass eels to silver eels. *Chemosphere* 83, 175–185.
- [50] Bodin, N., Tapie, N., Le Ménach, K., Chassot, E., Elie, P., Rochard, E., Budzinski, H., **2014**. PCB contamination in fish community from the Gironde Estuary (France): Blast from the past. *Chemosphere* 98, 66–72.
- [51] Gadel, F., Jouanneau, J.M., Weber, O., Serve, L., Comellas, L., **1997**. Traceurs organiques dans les dépôts de la vasière Ouest-Gironde (Golfe de Gascogne). *Oceanol. Acta* 20, 687–695.
- [52] Abril, G., Nogueira, M., Etcheber, H., Cabecadas, G., Lemaire, E., Brogueira, M.J., **2002**. Behaviour of Organic Carbon in Nine Contrasting European Estuaries. *Est. Coast. Shelf Sci.* 54, 241–262.
- [53] Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., Parlanti, E., **2009**. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Org. Geochem.* 40, 706–719.
- [54] Helsel, D. **2012**. Statistics for Censored Environmental Data Using Minitab and R, 2nd ed. Wiley.
- [55] Jeon, J., Kannan, K., Lim, H.K., Moon, H.B., Ra, J.S., Kim, S.D., **2010**. Bioaccumulation of perfluorochemicals in pacific oyster under different salinity gradients. *Environ. Sci. Technol.* 44, 2695–2701.
- [56] Guelfo, J.L., Higgins, C.P., **2013**. Subsurface transport potential of perfluoroalkyl acids at aqueous film-forming foam (AFFF)-impacted sites. *Environ. Sci. Technol.* 47, 4164–4171.
- [57] Ahrens, L., Yeung, L.W., Taniyasu, S., Lam, P.K.S., Yamashita, N., **2011**. Partitioning of perfluorooctanoate (PFOA), perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctane sulfonamide (PFOSA) between water and sediment. *Chemosphere* 85, 731–737.
- [58] Chen, H., Zhang, C., Yu, Y., Han, J., **2012**. Sorption of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on marine sediments. *Mar. Pollut. Bull.* 64, 902–906.
- [59] Ahrens, L., Bundschuh, M., **2014**. Fate and effects of poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: a review. *Environ. Toxicol. Chem.* 33, 1921–1929.
- [60] Turner, A., Rawling, M.C., **2000**. The behavior of di-(2-ethylhexyl) phthalate in estuaries. *Mar. Chem.* 68, 203–217.
- [61] Liu, S., Lu, Y., Xie, S., Wang, T., Jones, K.C., Sweetman, A.J., **2015**. Exploring the fate, transport and risk of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) in a coastal region of China using a multimedia model. *Environ. Int.* 85, 15–26.

CHAPITRE V

TRANSFERT DES PFAS

DU MILIEU AUX ORGANISMES

BIOACCUMULATION ET BIOAMPLIFICATION

TRANSFERT DES PFAS DU MILIEU AUX ORGANISMES – BIOACCUMULATION ET BIOAMPLIFICATION

Le **Chapitre V** s'articule en trois axes autour de la problématique générale de la bioaccumulation des PFAS. Le transfert des PFAS du compartiment abiotique vers les organismes a été évalué *in situ* en milieu fluvial ou estuarien. Le chapitre **V.1**, adossé au programme PIREN-Seine, avait pour objectif de caractériser la dynamique spatio-temporelle des PFAS en milieu fluvial urbain à l'amont et à l'aval de l'agglomération parisienne en conditions hydrologiques contrastées, et d'évaluer leur transfert chez un modèle biologique à la base du réseau trophique fluvial, le biofilm périphytique. Cette étude visait également à étudier la dynamique biogéochimique des PFAS en phase dissoute et les facteurs de contrôle de leur bioaccumulation. Les chapitres **V.2** et **V.3** partagent un site d'étude commun, l'estuaire de la Gironde. La variation saisonnière des niveaux de PFAS dans la colonne d'eau (phase dissoute et phase particulaire) et au sein des premiers maillons du réseau trophique estuarien (zooplancton, crevettes) a été examinée au niveau du site de Pauillac (Gironde) selon un pas de temps mensuel entre octobre 2012 et octobre 2013 (chapitre **V.2**). Caractériser la variabilité temporelle des teneurs de PFAS pour ces taxons à la base du réseau trophique est essentielle car celle-ci peut avoir un impact non-négligeable sur la détermination des facteurs d'amplification trophique (TMF). D'autres biais méthodologiques et statistiques pouvant survenir lors de la détermination des TMF ont été identifiés dans le cadre du chapitre **V.3** (volet « transfert trophiques » du projet PFC-Gironde), notamment le traitement réservé aux valeurs inférieures aux limites de détection. L'objectif de ce chapitre était d'évaluer le potentiel de bioamplification des PFAS en milieu estuarien (18 taxons, n = 147 échantillons) à travers l'étude de cas du réseau trophique de l'estuaire de la Gironde, afin de donner de nouveaux éléments sur le transfert de ces composés à l'interface terre-mer (de Vos et al., 2008).

V.1. Variations saisonnières des PFAS en milieu fluvial urbain fortement impacté, la Seine, et transfert au biofilm périphytique

Résumé

Quatre campagnes d'échantillonnage conduites en conditions hydrologiques contrastées ont permis d'évaluer la variabilité saisonnière des PFAS en milieu fluvial urbain fortement anthropisé, la Seine. Les niveaux et profils de PFAS ont été déterminés dans la phase dissoute, le sédiment et le biofilm périphytique au niveau de trois sites d'échantillonnage suivant un gradient en amont et en aval de la communauté urbaine de Paris. En phase dissoute, les niveaux totaux de PFAS (Σ PFAS) fluctuent entre 2–9 ng L⁻¹ et 6–105 ng L⁻¹ en amont et en aval de Paris, respectivement. Sur les 20 PFAS ciblés, 18 ont été détectés en phase dissoute, le profil moléculaire étant généralement dominé par le PFHxS et le PFOS à hauteur de ~ 20 % chacun de la Σ PFAS. Exception notable, le site le plus en aval de Triel-sur-Seine est caractérisé par une prédominance du 6:2 fluorotélomère sulfonate (6:2 FTSA = 35 ± 8 % de la Σ PFAS), ce qui pourrait indiquer la présence de sources industrielles et urbaines. L'observation de corrélations négatives entre les concentrations de PFAS en phase dissoute et le débit fluvial corrobore la prédominance de sources ponctuelles pour ces sites, conforme à des observations précédentes (Labadie et Chevreuil, 2011b). La Σ PFAS dans les échantillons de biofilm oscille entre 4 et 32 ng g⁻¹ de poids sec, reflétant comme dans le cas de la phase dissoute le gradient amont/aval de contamination. Des facteurs de bioconcentration (BCF) relativement élevés ont été observés pour le PFOS et les perfluoroalkyle carboxylates tels que le PFNA et le PFDA (log BCF ~ 2,1–4,3), supérieurs aux BCF des composés à plus courte chaîne perfluoroalkylée (ex : PFHxS, PFOA). Autre fait saillant, les BCF sont inversement corrélés aux concentrations en phase dissoute, ce qui indique le caractère dépendant à la concentration de la bioaccumulation pour les PFAS. Les caractéristiques intrinsèques du biofilm tel que le rapport carbone sur azote du biofilm (C/N) pourraient être un autre facteur de contrôle de la bioaccumulation des PFAS pour le modèle biologique à l'étude.

Spatio-temporal dynamics of poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) and transfer to periphytic biofilm in an urban river: case-study on the River Seine

Gabriel Munoz^a, Lise C. Fechner^{b,c}, Emmanuel Geneste^a, Patrick Pardon^a, H       Budzinski^d
and Pierre Labadie^{d,*}

^a: University of Bordeaux, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, 351 Cours de la Libération,
F-33400 Talence, France

^b: Irstea Antony, Unité de Recherche Hydrosystèmes et Bioprocédés (HBAN), 1 rue Pierre-Gilles de Gennes, CS 10030, F-92761 Antony Cedex, France

^c: AgroParisTech, F-75005 Paris, France

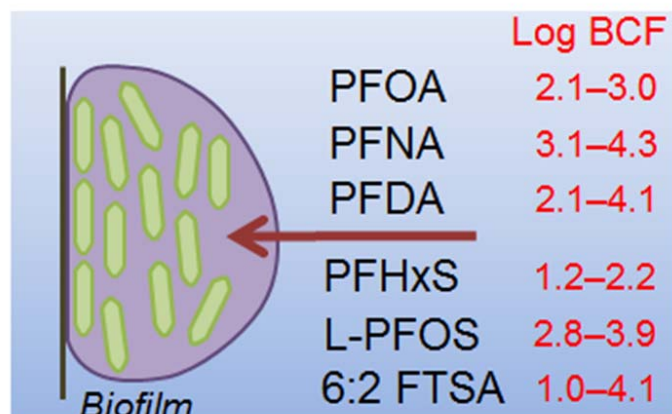
^d: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France

*Corresponding author. Contact: pierre.labadie@u-bordeaux.fr

To be submitted to

Environmental Science Pollution & Research

Graphical abstract



Highlights

- PFAS spatio-temporal dynamics in the highly urbanized Seine river (Paris, France).
- Σ PFASs in the range 2–9 ng L⁻¹ upstream and 6–105 ng L⁻¹ downstream from Paris.
- For most PFASs, negative correlation of levels and river flow rate: point sources.
- 6:2 FTSA soared downstream (35±8 % of Σ PFASs): specific urban / industrial sources.
- PFAS uptake in biofilms (Σ PFASs: 4–32 ng g⁻¹), especially L-PFOS (Log BCF 2.8–3.9).
- Biofilm bioconcentration factors negatively correlated to dissolved PFAS levels.

Abstract

This study addresses the spatio-temporal dynamics of poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) in a highly urbanized freshwater hydrosystem, the Seine river (NW France). The distribution of PFASs between water, sediment and periphytic biofilm was investigated at three sampling sites along a longitudinal gradient upstream and downstream from the Paris urban area. Seasonal variability was assessed through 4 sampling campaigns performed under contrasting hydrological conditions. In the dissolved phase, Σ PFASs fluctuated between 2–9 ng L⁻¹ upstream and 6–105 ng L⁻¹ downstream from Paris. Negative correlations between dissolved PFAS levels and river flow rate were generally observed, corroborating the predominance of point-source PFAS inputs at these sites. 18/20 target PFASs were detected, with a predominance of PFHxS and PFOS (20 % of Σ PFASs each), except for the farthest downstream site where 6:2 FTSA was prevalent (35 ± 8 % of Σ PFASs), likely reflecting industrial and urban inputs. In biofilms, Σ PFASs fell in the 4–32 ng g⁻¹ dw range, and substantial bioconcentration factors (BCFs) were reported for PFNA, PFDA and PFOS (Log BCF: 2.1–4.3), higher than those of PFHxS or PFOA. BCFs varied inversely with dissolved PFAS levels, pointing to concentration-dependent bioaccumulation. Biofilm community characteristics (C/N ratio) may also be an influential determinant of PFAS bioaccumulation.

Keywords

Polyfluoroalkyl compounds – Periphytic biofilm – Fluorotelomer sulfonate – Urban river – Bioconcentration.

1. Introduction

Poly- and perfluoroalkylated substances (PFASs) are synthetic surfactants that have been manufactured and used for the last sixty years in a wealth of applications. These include, but are not limited to, food packaging, water and oil-repellents for textiles, fire-fighting foams, lubricants and coatings, and additives in the synthesis of fluoropolymers (Buck et al., 2011). About fifteen years ago, perfluorooctane sulfonate (PFOS) fell under the scrutiny of the scientific community, after studies revealed its global distribution in wildlife (Giesy and Kannan, 2001) and prevalence in humans (Kannan et al., 2004), while concerns about its adverse effects were raised (Renner, 2001).

Since then, considerable advances have been achieved to disentangle PFAS sources or environmental fate (Ahrens, 2011). Urban areas have been pinpointed as key sources of PFASs to aquatic ecosystems, either due to point-source contamination (e.g., wastewater discharge) or diffuse contamination (e.g., urban runoff) (Mukarami et al., 2009; Möller et al., 2010; Labadie and Chevreuil, 2011a,b; Munoz et al., 2015a,b). Airports and military bases, wherein firefighting training activities may regularly occur, are also considered as major sources of PFASs to groundwater and surface water hydrosystems (Moody and Field, 2000; De Solla et al., 2012; Eschauzier et al., 2013; Ahrens et al., 2015). In addition, hot spots of contamination have been identified in the vicinity of industrial sites such as fluorochemical facilities, textile mills, power plants, and metal plating industries (Xie et al., 2013; Shan et al., 2014; Campo et al., 2015; Munoz et al., 2015a,b).

Following their release in aquatic ecosystems, PFASs display chemical structure dependent partitioning behavior. PFOS and long-chain perfluoroalkyl carboxylates (PFCAs) are of particular concern, due to their higher hydrophobicity than shorter-chain homologues, hence their propensity to bioaccumulation (Houde et al., 2011). It has also been suggested that some of the bioaccumulative PFASs may undergo biomagnification through food chains (Martin et al., 2004; Houde et al., 2006). However, little is still known about their transfer in the very first trophic levels (Loi et al., 2011; Lam et al., 2014; Xu et al., 2014), which encompass for instance phytoplankton and periphyton.

Periphytic biofilms are composed primarily of heterotrophic and autotrophic microbial cells embedded in an external matrix of polysaccharides and proteins (Sabater, 2007). Arguably, biofilms may play a key role in controlling contaminant bioavailability and transfer to higher order consumers such as invertebrates or fish which graze on it. To illustrate, Jardine et al. (2013) studied the trophic dynamics of total mercury and methyl mercury in a Canadian freshwater ecosystem consisting of periphyton, invertebrates and fish, and concluded on trophic magnification. While the intake of herbicides by riverine biofilms has been relatively well described (e.g., Headley et al., 1998; Bérard et al., 2003; Ricart et al., 2009), that of emerging organic contaminants, in contrast, has been seldom reported (Writer et al., 2011; Corcoll et al., 2014; Du et al., 2015). A number of studies examined pollution-induced community tolerance (PICT) in biofilm communities (e.g., Corcoll et al., 2014; Fechner et al., 2014), PICT referring to the replacement of sensitive species, genotypes or phenotypes by more tolerant ones under an environmental stressor (Blanck et al., 1988). Since they are relatively easy to grow in-situ and may readily respond to changes in environmental parameters, biofilms may be considered as relevant model organisms to monitor the fate and effects of xenobiotic chemicals (Sabater et al., 2007), especially in freshwater ecosystems.

Under the scope of the PIREN-Seine research program, the present study aimed at investigating the spatio-temporal dynamics of PFASs in the dissolved phase, sediment, and periphytic biofilm in a heavily urbanized freshwater ecosystem, the Seine river (northwestern France). The occurrence of multiple organic micro-pollutants has been previously reported in this system (e.g., Cailleaud et al., 2007; Gasperi et al., 2009; Labadie and Chevreuil, 2011a,b; Tlili et al., 2012; Teil et al., 2014). In the present study, four sampling campaigns were conducted under contrasting hydrological conditions at three study sites to examine both seasonal and spatial fluctuations at the water year scale (2011–2012). Biofilm properties (e.g., organic content and C/N ratio) as well as water physico-chemical parameters (flow rate, dissolved cations, dissolved PFASs in the water column) were also considered in an attempt to get further insight into the factors governing the bioconcentration of PFASs in biofilm.

2. Materials and Methods

2.1 Chemicals

Certified PFAS native compounds and isotope-labeled internal standards (ISs) were all purchased from Wellington Laboratories (BCP Instruments, Irigny, France). Target molecules included 11 PFCAs (PFBA, PFPeA, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTTrDA, PFTeDA), 5 perfluoroalkyl sulfonates (PFASs) (PFBS, PFHxS, PFHpS, linear PFOS (L-PFOS), PFDS), FOSA and its N-alkylated derivatives (MeFOSA, EtFOSA), and one fluorotelomer sulfonate (6:2 FTSA). In the case of PFOS branched isomers (Br-PFOS), the concentrations were calculated from the calibration curve used for L-PFOS. $^{13}\text{C}_2$ -PFHxA, $^{13}\text{C}_4$ -PFOA, $^{13}\text{C}_2$ -PFDA, $^{13}\text{C}_2$ -PFUnDA, $^{13}\text{C}_2$ -PFDoDA, $^{13}\text{C}_4$ -PFOS, $^{13}\text{C}_8$ -FOSA, d_3 -N-MeFOSA and d_5 -N-EtFOSA were used as ISs. Analyte names, acronyms and structures, as well as correspondence with ISs, have been described elsewhere (Munoz et al., 2015a).

Methanol (MeOH) and acetonitrile (ACN) were from J.T. Baker (Atlantic Labo, Bruges, France). Ultrapure water was obtained using a Millipore Elix 10 system fitted with an EDS Pak polisher. Nitrogen gas (99.999 %) was from Linde (St Priest, France). Strata X-AW cartridges (200 mg/6 mL) were supplied by Phenomenex (Le Pecq, France). Supelclean ENVI-Carb cartridges (250 mg/6 mL), ammonium hydroxide (NH_4OH) (28.0–30.0 % NH_3 basis) and ammonium acetate ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) (Fluka) for HPLC (≥ 99.0 %) were obtained from Sigma-Aldrich (S^t Quentin Fallavier, France).

2.2 Sampling sites

Located in north-western France, the Seine river flows through a modest-size drainage basin (circa 65,000 km^2) including the Paris urban area (Greater Paris) (Meybeck et al., 2004). With seasonal extremes of $< 100 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ during low-water periods and $> 1000 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ during flood events (median: $300 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ at Austerlitz downtown Paris over the 1974–2015 period), considerable variations in pollutant concentrations are likely to be expected (Labadie and Chevreuil, 2011b). Potential anthropogenic impacts in the Seine watershed include farmland activities (especially upstream from the Paris urban area where agriculture represents 80 % of land use) and industrial inputs (mainly within or downstream from the Paris urban area). Overall, a strong urban pressure is exerted on this watershed,

the Greater Paris region now housing well above 10 million inhabitants (Meybeck et al., 2004). Thus, high anthropogenic pressures and limited dilution capability render this waterway inherently fragile (Labadie and Chevreuil, 2011b).

Three sampling sites were investigated in the present study (SI **Fig.S1**). Marnay-sur-Seine, located about 200 km upstream from Paris (48.51°N, 3.55° W), was selected as a reference site, non-affected by the Greater Paris region. Bougival (48.87°N; 2.13°W), situated approximately 40 kms downstream from Paris, was chosen to investigate the impact of the Greater Paris on PFAS levels in the Seine River. Another 40 kms further downstream, Triel-sur-Seine (48.98°N; 2.00°W) was selected to assess the global influence of the Paris urban area, integrating all its inputs to the river, including the main wastewater treatment plants (WWTPs). The farthest downstream site (Triel-sur-Seine) is also situated a few kms downstream from the confluence with the Oise River. Daily river flow data were obtained from the Banque Hydro website (<hydro.eaufrance.fr>).

2.3. Sample collection and storage

Four sampling campaigns were undertaken between September 2011 and December 2012: “autumn” (August 31st – September 27th 2011), “spring” (March 2nd – April 3rd 2012), “summer” (June 1st – July 3rd 2012) and “winter” (November 13th – December 18th 2012).

For each campaign, 2–4 water samples were therefore collected over a one-month period. After transfer to the laboratory, samples were stored at -20°C. Prior to analysis, samples were thawed, filtered on GF/F (0.7 µm) Whatman glass microfiber filters (previously ignited at 450°C for 6h). For each campaign (except campaign 3), one composite superficial (0–2 cm) bed sediment sample was collected in aluminum containers and stored at -20 °C until freeze-drying, grinding and sieving at 2 mm.

For each sampling campaign and each site, biofilms were collected on Low Density PolyEthylene (LDPE) membranes vertically attached to plastic crates, immersed at each sampling site for four weeks on the river banks, as described elsewhere (Faburé et al., 2015). Colonized membranes were taken back to the laboratory in polyethylene tubes and stored at -20°C. After thawing, membranes were hand-scraped to collect periphyton and subsamples from different membranes collected at one site were pooled together. Biofilm samples were freeze-dried, ground and kept at room temperature until further analysis.

Organic nitrogen (ON) and organic carbon (OC) content were determined in sediment and biofilm using a Flash EA 1112 Series analyser (Thermo Finnigan), after sample decarbonation (adapted from Kennedy et al., 2005).

Characteristics of water and biofilm samples are summarized in the SI (**Tables S1-S2**).

2.4. Sample preparation and PFAS analysis

ISs (1 ng each) were gravimetrically added to the samples prior to extraction. Water and sediment extraction procedures are presented elsewhere (Munoz et al., 2015a). Biofilm samples (100–500 mg) were extracted by ultrasonic extraction based on the method described by Bertin et al. (2014) for gammarids. PFAS analysis was performed with high performance liquid chromatography coupled to

negative electrospray ionization and an Agilent 6460 triple quadrupole mass spectrometer (Agilent Technologies, Massy, France). Full details on chromatographic and mass spectrometry settings, including analyte and IS transitions, are provided elsewhere (Munoz et al., 2015a).

2.5. Quality control and method performance

Analyte recovery was determined using spiked samples (1 ng L^{-1} or 0.5 ng g^{-1}) ($n=3$) and recovery rates were in the range 55–115 % for mineral water samples and 80–105 % for Fontainebleau sand, which was used as a surrogate for solid samples. Relative standard deviations were lower than 20 %. Replicate procedural blanks were analyzed for each series of samples and, when applicable, PFAS concentrations were blank-corrected.

For most analytes, limits of detection (LODs) were determined as the concentration with a signal to noise ratio of 3, except for those detected in blanks, for which LODs were calculated as follows: $\text{LOD} = t_{n-1, 95} \times \sigma_b$, where t is the t-value based on the 95th percentile ($n-1$ degrees of freedom) and σ_b is the standard deviation of the analyte in n blank samples (Muir and Sverko, 2006). LODs were in the range $0.02\text{--}0.3 \text{ ng L}^{-1}$, $0.02\text{--}0.2 \text{ ng g}^{-1}$ and $0.02\text{--}0.3 \text{ ng g}^{-1}$ for water, sediment and biofilm samples, respectively.

2.6. Statistics

Statistical significance was set at a 0.05 threshold and normality was evaluated using the Kolmogorov-Smirnov test. Statistical differences between two or more groups were evaluated by t-test/ANOVA or Mann-Whitney/Kruskal-Wallis. SigmaplotTM 11.0 (Systat Software) was used to conduct data analysis. The Factminer package from R statistical software (R version 2.15.3, R Core Team, 2013) was used to perform principal component analysis (PCA).

3. Results and discussion

3.1. PFAS levels and profiles along the upstream/downstream transect

The majority of target analytes were either systematically or near-systematically detected in the dissolved phase (SI **Table S3**). $\text{C}_5\text{--}\text{C}_8$ PFCAs were found in all samples, as well as $\text{C}_6\text{--}\text{C}_8$ PFSA, in excellent agreement with Labadie and Chevreuil (2011b). PFNA, PFDA, 6:2 FTSA, PFBS and FOSA were also frequently detected (70–97 %), while $\text{C}_{11}\text{--}\text{C}_{14}$ PFCAs were less recurrent (0–39 %). In sediment samples ($n = 9$), 13/20 targeted PFASs were found, the highest detection frequencies being reported for L-PFOS (100 %), followed by PFOA and FOSA (89 %). While long-chain PFCAs ($\text{C}_{10}\text{--}\text{C}_{14}$) maintained relatively high detection frequencies (33–89 %), short-chain congeners such as $\text{C}_5\text{--}\text{C}_7$ PFCAs or PFBS were not detected, reflecting their higher affinity for the dissolved phase.

Total Σ PFASs levels in the dissolved phase were significantly lower at the upstream reference site (Marnay) than at the two downstream sites (Bougival, Triel) (**Fig. 1**). Σ PFASs was in the range $1.8\text{--}8.8 \text{ ng L}^{-1}$ at Marnay (mean: $5.9 \pm 2.2 \text{ ng L}^{-1}$; median: 6.3 ng L^{-1}), $6.7\text{--}44 \text{ ng L}^{-1}$ at Bougival (mean: 27 ± 12

ng L⁻¹; median: 28 ng L⁻¹), and 13–105 ng L⁻¹ at Triel (mean: 55 ± 27 ng L⁻¹; median: 50 ng L⁻¹). The relatively high PFAS levels reported are in good agreement with previous observations in the Seine and the nearby Orge river (mean Σ PFASs = 55 and 77 ng L⁻¹, respectively) (Labadie and Chevreuil, 2011a,b). The longitudinal contamination gradient observed is in reasonable agreement with previous observations by Gasperi et al. (2009) in the Seine river for other organic pollutants. In contrast, no such gradient emerged in the case of sediment samples (SI **Table S4**). The lower PFAS levels observed in sediments from Triel may be explained by the coarser characteristics of the latter (SI **Fig.S2**), grain-size being a significant controlling factor of PFAS sedimentary levels (Munoz et al., 2015a).

Considerable variations were observed between sites when examining PFAS molecular patterns (**Fig.1**). While Marnay and Bougival exhibited high relative abundance for PFHxS, Br-PFOS and L-PFOS (15–25 % each), the relative contribution of 6:2 FTSA increased dramatically at the most downstream site, reaching 35 ± 8 % on average, to be compared to 1.3 ± 0.9 % at Marnay and 10 ± 6 % at Bougival. A similar trend was observed for sediment samples, 6:2 FTSA representing 0–2 % of Σ PFASs at Marnay, 0–10 % at Bougival, but no less than 16–31 % at Triel (SI **Fig.S3**). 6:2 FTSA is often associated with industrial sites or areas impacted by fire-fighting trainings (Schultz et al., 2004; Backe et al., 2013; Ahrens et al., 2015; Munoz et al., 2015a,b), and may biodegrade to short-chain PFCAs (Liu and Mejia-Avendaño, 2013). Activities from a distant fluorochemical plant located upstream in the Oise basin (a tributary of the Seine River) or those of other industries located in the Paris urban area, as well as discharges from the main Paris wastewater treatment plant (20 km upstream from Triel), may be responsible for the distinct pattern observed at Triel.

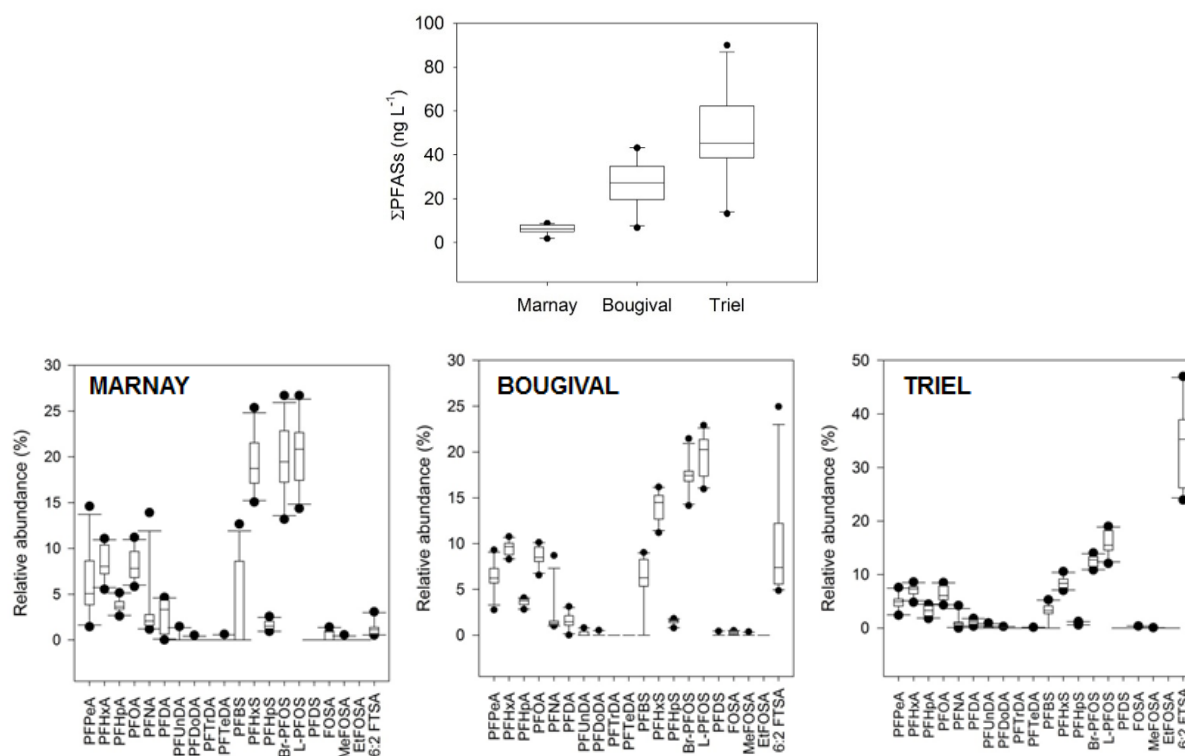


Fig.1. Total PFAS levels in the dissolved phase and corresponding molecular pattern in the River Seine (n = 12 per sampling site).

At each site, correlations between compounds in the dissolved phase were evaluated through the calculation of Spearman's rank order coefficients (SI **Tables S5-S7**). Highly significant positive correlation coefficients ($R = 0.86\text{--}0.98$) were consistently reported for most PFASs. A notable exception, however, was 6:2 FTSA for which correlations with other compounds were either non-significant (Bougival) or negative (Marnay), highlighting the specific dynamics of this compound. The average PFHpA to PFOA ratio at each site fell in the 0.42–0.52 range, in line with previous findings by Labadie and Chevreuil (2011b) in the Seine downtown Paris. The relatively low ratios observed are consistent with surface waters affected by urban activities (Simcik and Dorweiler, 2005).

3.2. Temporal dynamics of PFAS levels and influence of hydrological parameters

River flow rates oscillated between $30\text{--}101\text{ m}^3\text{ s}^{-1}$ at Marnay, $110\text{--}416\text{ m}^3\text{ s}^{-1}$ at Bougival and $169\text{--}507\text{ m}^3\text{ s}^{-1}$ at Triel, with minimum values at the end of summer (September 2011) and maximum values in winter (November–December 2012). Ca^{2+} prevailed over other major cations (Mg^{2+} , K^+ or Na^+) (SI **Table S1**), likely due to calcium carbonate which is the dominant mineral subject to natural weathering in this watershed (Roy et al., 1999). Concentrations of major cations were negatively correlated to flow rate, suggesting dilution of the latter during high flow rate periods, except for Ca^{2+} that correlated positively to flow rate at each sampling site (SI **Table S8**).

The short-term temporal variability of dissolved PFAS levels and profiles was mainly assessed through the first sampling campaign (September 2011, one sample per week). At each site, ΣPFASs varied only up to a factor of 1.5–1.8 between replicates ($n=4$), which highlights the relative stability of PFAS levels under stable hydrological conditions (RSD of river flow $< 4\%$ for campaign #1).

In addition, seasonal variations were examined at the water year scale, PFAS concentration peaks being generally associated to low-flow conditions. For instance, dissolved L-PFOS levels were inversely correlated to flow rate at each sampling location, as illustrated in **Fig.2**, suggesting that L-PFOS mainly originates from point sources in this watershed. Similar trends were observed for nearly all PFASs at Bougival and Triel (SI **Tables S6-S7**), as well as for ΣPFASs , in good agreement with results obtained in the Seine river at Paris downtown (Labadie and Chevreuil, 2011b). At the farthest upstream site, in contrast, only a few compounds were found to be negatively correlated to flow rate (e.g., L-PFOS, **Fig.2**), and no significant trend emerged between ΣPFASs and flow rate (Spearman's $\text{Rho} = 0.13$). While the two downstream sites (Bougival, Triel) are likely under the prime influence of point sources, the upstream site (Marnay, located in a rural area between the urban centers of Troyes and Paris) is rather under the combined influence of point and diffuse sources (e.g., atmospheric deposition), hence the weaker correlations between dissolved PFAS levels and river flow rate observed at this site.

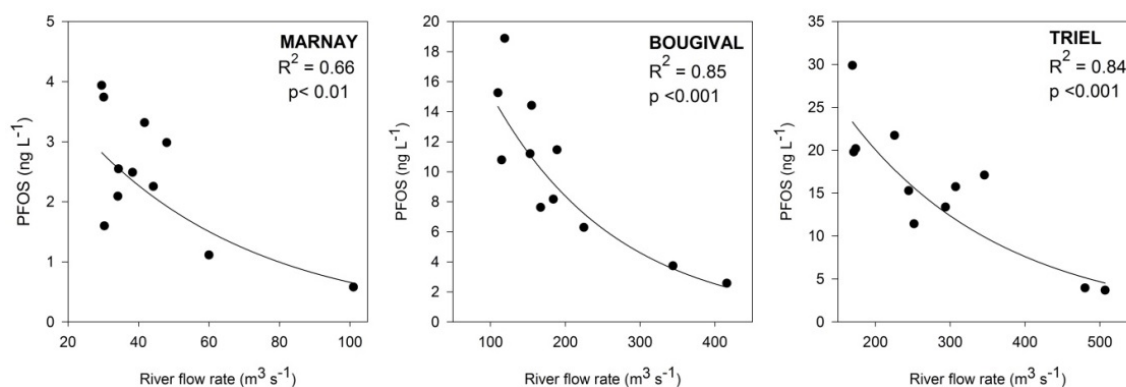


Fig.2. Correlation between PFOS levels and river flow rate in the River Seine.

At the farthest downstream site (Triel), the relationship between PFAS levels and river flow rate could be fitted using an exponential model, as follows:

$$[X]_i = a * e^{-b*Q_i}$$

Where $[X]_i$ is the dissolved concentration on day i (ng L^{-1}) and Q_i is the average river flow rate on day i ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$); a and b are numerical constants dependent upon the sampling site and upon the molecule considered. For major individual PFASs, determination coefficients were in the range 0.80–0.88 ($p < 0.01$) (see **Fig. 2** for L-PFOS), except for 6:2-FTSA ($p > 0.05$); the model, however, proved highly significant for ΣPFASs (i.e. $[\Sigma\text{PFASs}]_i = 143e^{-0.004Q_i}$, $R^2 = 0.81$, $p < 0.001$).

The PFAS mass flow for the investigated period at this station was subsequently estimated as follows:

$$F_x = \sum_i (143 * e^{-0.004*Q_i}) * Q_i * 8.64 * 10^{-8}$$

Where F_x is the mass flow (kg), Q_i is the average flow rate on day i ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$), and 8.64×10^{-8} is a conversion factor required to express the daily mass flow in kg.

Over the time period covered by this study (~ 15 months), the estimated mass flow at Triel was approximately 450 kg ΣPFASs (inc. ca 140 kg for total PFOS), indicating an annual ΣPFAS mass flow of ca 350 kg. This value is in reasonable agreement with previous estimates for the Seine River in Paris ($\Sigma\text{PFAS} = 485 \text{ kg y}^{-1}$), considering the differences in sampling strategies and mass flow calculations (Labadie and Chevreuil, 2011b).

3.3. Transfer to biofilm and determinants of PFAS bioconcentration factor

In biofilm samples ($n=11$), high detection frequencies (80–100 %) were reported for $\text{C}_8\text{--C}_{12}$ PFCAs, PFHxS and L-PFOS (SI **Table S3**). ΣPFASs was in the range 4.3–33 ng g^{-1} dw, L-PFOS largely dominating the congener pattern (53–92 % of ΣPFASs) (SI **Fig.S4-S5**), in excellent agreement with profiles commonly reported for aquatic wildlife (Houde et al., 2011). Irrespective of the unit chosen (ng g^{-1} dw or ng g^{-1} OC), PFAS concentrations in biofilm samples largely exceeded those of sediment samples (SI **Tables S3-S4**). Based on existing knowledge on contaminant accumulation in biofilms, it can be speculated that PFASs are not only absorbed at the biofilm's surface, but may also be incorporated within the matrix of extracellular polymeric substances (EPS) containing microbially-produced sugars, proteins or DNA, or undergo intracellular accumulation (Gerbersdorf et al., 2015).

This also implies that periphytic biofilms may constitute a key entry-point for PFASs at the base of riverine food webs and a major source of PFASs for grazers.

Biofilm bioconcentration factors (BCF) were calculated for PFAS analytes detected in both dissolved phase samples and biofilm samples (“*matching pairs*” method). Overall, PFAS Log BCF values ranged between 1.0–4.1 in the biofilm samples collected (**Table 1**), which compares well with observations for instance for other organic micropollutants such as diclofenac, venlafaxine and tris-(2-butoxyethyl)-phosphate (TEBP) in the Segre river (Ebro river basin, NE Spain) ($\log \text{BCF}_{\text{biofilm}} = 2.9; 3.2 \text{ and } 2.4 \pm 0.2$, respectively) (Ruhí et al., 2015).

Table 1. Log BCF (mean \pm SD) calculated for compounds detected in both water (dissolved phase) and biofilm (“matching pairs” method).

Log BCF _{biofilm}		PFOA	PFNA	PFDA	PFHxS	PFUnA	L-PFOS	6:2 FTSA
Marnay	Log BCF _{biofilm}	2.9 \pm 0.1	4.0	3.6 \pm 0.6	2.0 \pm 0.2	—	3.8 \pm 0.1	3.6
	n matching pairs	4/4	2/4	3/4	4/4	0/4	4/4	2/4
Bougival	Log BCF _{biofilm}	2.3 \pm 0.1	3.5 \pm 0.4	3.0 \pm 0.6	1.4 \pm 0.2	—	3.1 \pm 0.2	1.5
	n matching pairs	4/4	3/4	3/4	4/4	0/4	4/4	2/4
Triel	Log BCF _{biofilm}	2.3 \pm 0.1	3.6 \pm 0.6	3.2 \pm 0.1	1.6 \pm 0.1	3.9	3.2 \pm 0.1	1.4 \pm 0.2
	n matching pairs	3/3	3/3	3/3	3/3	2/3	3/3	3/3

In the present study, substantial BCFs in biofilm were reported for PFNA, PFDA and L-PFOS (Log BCF range: 3.1–4.3, 2.1–4.1 and 2.8–3.9, respectively), higher than those of shorter-chain congeners such as PFHxS (Log BCF range: 1.2–2.2). This again underscores the importance of perfluoroalkyl chain length (and functional group) on PFAS bioaccumulation potential, as was observed for other biological models (Martin et al., 2003; Kwadijk et al., 2010; Labadie and Chevreuil, 2011a; Ahrens et al., 2015). With the exception of one value at Marnay (Log BCF = 4.1), field-derived BCFs of 6:2 FTSA in biofilm were generally consistent with values from Hoke et al. (2015) who determined Log BCF in the range 0.5–1.5. The somewhat higher values reported in the present study may be explained by differences in study design (field-derived Vs laboratory-derived BCFs), exposure concentration (0.05–41 ng L⁻¹ Vs 1–10 µg L⁻¹), or biological models (periphytic biofilm Vs rainbow trout).

While PFAS levels in biofilm were comparable to the contamination gradient observed for water samples, displaying maximum values at Triel (SI **Fig.S3**), BCFs were significantly higher at Marnay than at the other two downstream sites (**Table 1**), suggesting that BCFs are concentration-dependent, decreasing as contaminant concentrations increase. In connection with this study, Faburé et al. (2015) determined Log BCF in the Seine river biofilms in the range 3.9–5.7 for a suite of metals; in this specific case, however, no significant difference emerged between the 3 sampling sites (Marnay, Bougival, Triel) in terms of BCF values, possibly indicating that the biofilms’ metal-binding sites were not saturated.

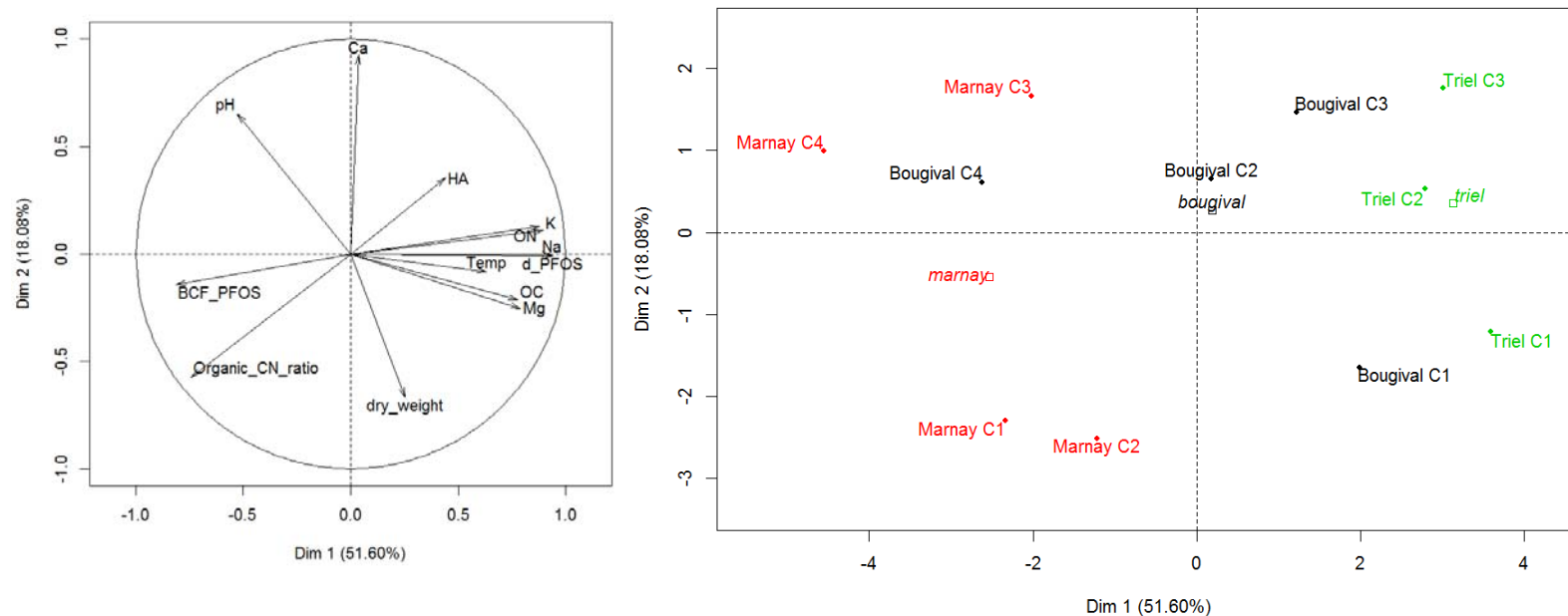


Fig.3. Principal Component Analysis (PCA) of PFOS accumulation in biofilm: variables factor map (left) and individuals factor map (right). HA: biofilm heterotrophic activity; Organic.CN.ratio: biofilm organic C/N ratio; OC: biofilm organic carbon content; ON: biofilm organic nitrogen content ; Ca = dissolved Ca^{2+} ; Mg =dissolved Mg^{2+} ; Na = dissolved Na^+ ; K= dissolved K^+ ; d_PFOS = dissolved PFOS level in the water column. The “C1–4” notation refers to sampling campaigns #1–4. For each site, the barycenter is indicated in italics.

Determinants of biofilm BCF were tentatively assessed via a multivariate analysis approach, for compounds with no censored values only (namely, PFOA, PFHxS, L-PFOS). An illustration of PCA generated for L-PFOS is provided in **Fig.3**. The first factorial plane (Dim 1) accounted for more than 51 % of the total variance, corresponding to variables that reflected the contamination gradient (e.g., dissolved L-PFOS levels or cations other than Ca^{2+}). Dim 2 only explained 18 % of inertia, with variables little affected by the contamination gradient or environmental conditions (i.e., Ca^{2+}). BCF was found to be inversely correlated to dissolved PFAS concentrations for PFOA, PFHxS and L-PFOS (SI **Table S9**). This concurs with previous PFAS bioconcentration studies under controlled conditions for mussels (Liu et al., 2011) or rainbow trout (Hoke et al., 2015); it is however the first time that this phenomenon is evidenced in situ. Significant negative correlations were also observed between BCF and major cation concentrations (except for Ca^{2+}), in good agreement with the inhibition effect described by Xia et al. (2015) in *Daphnia magna*; Na^+ and K^+ have also been shown to decrease the sorption behavior of PFASs in wastewater sludge (Wang et al., 2015). However, a correlation does not mean a causal relationship *per se*, and in our case this result may be coincidental due to the collinearity between PFAS levels and Mg^{2+} , K^+ or Na^+ levels which might be related to the overall upstream-downstream contamination gradient. C/N ratio (indicative of bacteria/algae relative abundance) (McMahon et al., 1974) was the only biofilm descriptor that was found to be positively correlated to BCF for PFOA, PFHxS and L-PFOS (Pearson's $R = 0.71\text{--}0.79$) (SI **Table S9**). This altogether suggests that biofilm community characteristics may be another key underlying factor of PFAS bioaccumulation in periphyton.

4. Conclusions

The spatio-temporal dynamics of PFASs in a heavily anthropized urban river has been investigated under contrasting hydrological conditions. The majority of target compounds were systematically or near-systematically detected, ΣPFASs reaching at times 100 ng L^{-1} in the dissolved phase and $30 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ in biofilm. The relative contribution of 6:2 FTSA to the molecular pattern increased nearly thirty-fold in the dissolved phase from Marnay to the farthest downstream site (Triel), likely reflecting both industrial and urban inputs. Strong negative relationships were evidenced between BCF and PFAS concentrations, for the first time in a field study. Multivariate analysis identified dissolved PFAS levels, major cation concentrations and community characteristics (biofilm C/N ratio) as potential controlling factors of PFAS bioaccumulation in periphyton. Microcosm experiments under controlled conditions and modelling studies are still required to better fathom the processes that govern PFAS accumulation in riverine biofilms.

Acknowledgements

This work was supported by a grant from the PIREN-Seine research programme (<http://www.sisyphe.upmc.fr/piren/>). This study has been carried out with financial support from the

French National Research Agency (ANR) in the frame of the “Investments for the future” Program, within the Cluster of Excellence COTE (ANR-10-LABX-45). IdEx Bordeaux (ANR-10-IDEX-03-02) provided the PhD grant allocated to G. Munoz. The authors also acknowledge funding from the INTERREG ORQUE SUDOE project (SOE3/P2/F591), as well as from the Aquitaine Regional Council and the European Union (CPER A2E project). Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund (FEDER). The authors thank Michel Cremer and Nicolas Savoye, both at UMR 5805 EPOC (CNRS-Université de Bordeaux), who supplied sediment grain-size distribution data and organic nitrogen/carbon data, respectively.

References

Ahrens, L., **2011**. Polyfluoroalkyl compounds in the aquatic environment: a review of their occurrence and fate. *J. Environ. Monit.*, 13, 20–31.

Ahrens, L., Norström, K., Viktor, T., Cousins, A.P., Josefsson, S., **2015**. Stockholm Arlanda Airport as a source of per- and polyfluoroalkyl substances to water, sediment and fish. *Chemosphere* 129, 33–38.

Bérard, A., Dorigo, U., Mercier, I., Becker-van Slooten, K., Grandjean, D., Leboulanger, C., **2003**. Comparison of the ecotoxicological impact of the triazines Irgarol 1051 and atrazine on microalgal cultures and natural microalgal communities in Lake Geneva. *Chemosphere* 53, 935–944.

Bertin, D., Ferrari, B.J.D., Labadie, P., Sapin, A., Garric, J., Budzinski, H., Houde, M., Babut, M., **2014**. Bioaccumulation of perfluoroalkyl compounds in midge (*Chironomus riparius*) larvae exposed to sediment. *Environ. Pollut.* 189, 27–34.

Blanck, H., Wängberg, S.A., Molander, S., **1988**. “Pollution-Induced Community Tolerance – A New Ecotoxicological Tool”. *Functional Testing of Aquatic Biota for Estimating Hazards of Chemicals. ASTM STP 988*, J. Cairns, Jr., and J.R. Pratt, Eds., American Society for Testing and Materials, Philadelphia, pp. 219–230.

Buck, R.C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J.M., Cousins, I.T., De Voogt, P., **2011**. Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: terminology, classification and origins. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 7, 513–541.

Cailleaud, K., Forget-Leray, J., Souissi, S., Hilde, D., LeMenach, K., Budzinski, H., **2007**. Seasonal variations of hydrophobic organic contaminant concentrations in the water-column of the Seine Estuary and their transfer to a planktonic species *Eurytemora affinis* (Calanoïda, copepoda). Part 1: PCBs and PAHs. *Chemosphere* 70, 270–280.

Campo, J., Pérez, F., Masiá, A., Picó, Y., Farré, M., Barceló, D., **2015**. Perfluoroalkyl substance contamination of the Llobregat River ecosystem (Mediterranean area, NE Spain). *Sci. Tot. Environ.* 503–504, 48–57.

Corcoll, N., Acuña, V., Barceló, D., Casellas, M., Guasch, H., Huerta, B., Petrovic, M., Ponsatí, L., Rodríguez-Mozaz, S., Sabater, S., **2014**. Pollution-induced community tolerance to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in fluvial biofilm communities affected by WWTP effluents. *Chemosphere* 112, 185–193.

De Solla, S.R., De Silva, O., Letcher, R.J., **2012**. Highly Elevated Levels of Perfluorooctane Sulfonate and Other Perfluorinated Acids Found in Biota and Surface Water Downstream of an International Airport, Hamilton, Ontario, Canada. *Environ. Int.* 39, 19–26.

Du, B., Haddad, S.P., Scott, W.C., Chambliss, C.K., Brooks, B.W., **2015**. Pharmaceutical bioaccumulation by periphyton and snails in an effluent-dependent stream during an extreme drought. *Chemosphere* 119, 927–934.

Eschauzier, C., Raat, K.J., Stuyfzand, P.J., De Voogt, P. **2013**. Perfluorinated alkylated acids in groundwater and drinking water: Identification, origin and mobility. *Sci. Tot. Environ.* 477–485.

Fechner, L.C., Gourlay-Francé C., Tusseau-Vuillemin, M.H., **2014**. Linking community tolerance and structure with low metallic contamination: A field study on 13 biofilms sampled across the Seine river basin. *Water Res.* 51, 152–162.

Gasperi, J., Garnaud, S., Rocher, V., Moilleron, R., **2009**. Priority pollutants in surface waters and settleable particles within a densely urbanised area: Case study of Paris (France). *Sci. Total Environ.* 407, 2900–2908.

Gerbersdorf, S.U., Cimadoribus, C., Class, H., Engesser, K.H., Helbich, S., Hollert, H., Lange, C., Kranert, M., Metzger, J., Nowak, W., Seiler, T.B., Steger, K., Steinmetz, H., Wieprecht, S., **2015**. Review. Anthropogenic Trace Compounds (ATCs) in aquatic habitats — Research needs on sources, fate, detection and toxicity to ensure timely elimination strategies and risk management. *Environ. Int.* 79, 85–105.

Giesy, J.P., Kannan, K., **2001**. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environ Sci. Technol.* 35, 1339–1342.

Headley, J.V., Gandrass, J., Kuballa, J., Peru, K.M., Gong, Y., **1998**. Rates of sorption and partitioning of contaminants in river biofilm. *Environ. Sci. Technol.* 32, 3968–3973.

Hoke, R.A., Ferrell, B.D., Ryan, T., Sloman, T.L., Green, J.W., Nabb, D.L., Mingoia, R., Buck, R.C., Korzeniowski, S., **2015**. Aquatic hazard, bioaccumulation and screening risk assessment for 6:2 fluorotelomer sulfonate. *Chemosphere* 128, 258–265.

Houde, M., Bujas, T. D., Small, J., Fair, P., Bossart, G. D., Solomon, K., and Muir, D.C.G., **2006**. Biomagnification of Perfluoroalkyl Compounds in the Bottlenose Dolphin (*Tursiops truncatus*) Food Web. *Environ. Sci. Technol.* 40, 4138–4144.

Houde, M., De Silva, A.O., Muir, D.C.G., Letcher, R.J., **2011**. Monitoring of Perfluorinated Compounds in Aquatic Biota: An Updated Review. *Environ. Sci. Technol.* 45, 7962–7973.

Jardine, T.D., Kidd, K.A., O'Driscoll, N., **2013**. Food web analysis reveals effects of pH on mercury bioaccumulation at multiple trophic levels in streams. *Aquatic Toxicol.* 132–133, 46–52.

Kannan, K., Corsolini, S., Falandysz, J., Fillmann, G., Kumar, K.S., Loganathan, B.G., Mohd, M.A., Olivero, J., van Wouwe, N., Yang, J.H., Aldous, K.M., **2004**. Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in human blood from several countries. *Environ Sci. Technol.* 38, 4489–4495.

Kennedy, P., Kennedy, H., Papadimitriou, S., **2005**. The effect of acidification on the determination of organic carbon, total nitrogen and their stable isotopic composition in algae and marine sediment. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19, 1063–1068.

Kwadijk, C.J.A.F., Korytár, P., Koelmans, A.A., **2010**. Distribution of Perfluorinated Compounds in Aquatic Systems in the Netherlands. *Environ. Sci. Technol.* 44, 3746–3751.

Labadie, P., Chevreuil, M., **2011a**. Partitioning behaviour of perfluorinated alkyl contaminants between water, sediment and fish in the Orge River (nearby Paris, France). *Environ. Pollut.* 159, 391–397.

Labadie, P., Chevreuil, M., **2011b**. Biogeochemical dynamics of perfluorinated alkyl acids and sulfonates in the River Seine (Paris, France) under contrasting hydrological conditions. *Environ. Pollut.* 159, 3634–3639.

Liu, C., Gin, K.Y.H., Chang, V.W.C., Goh, B.P.L., Reinhard, M., **2011**. Novel perspectives on the Bioaccumulation of PFCs – the Concentration Dependency. *Environ. Sci. Technol.* 45, 9758–9764.

Liu, J., Mejia Avendaño, S., **2013**. Microbial degradation of polyfluoroalkyl chemicals in the environment: A review. *Environ. Int.* 61, 98–114.

Loi, E.I.H., Yeung, L.W.Y., Taniyasu, S., Lam, P.K.S., Kannan, K., Yamashita, N., **2011**. Trophic magnification of poly- and perfluorinated compounds in a subtropical food web. *Environ. Sci. Technol.* 45, 5506–5513.

Martin, J.W., Mabury, S.A., Solomon, K., Muir, D.C.G., **2003**. Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 196–204.

Martin, J.W., Whittle, D.M., Muir, D.C.G., and Mabury, S.A., **2004**. Perfluoroalkyl Contaminants in a Food Web from Lake Ontario. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5379–85.

McMahon, R.F., Hunter, R.D., Russell-Hunter, W.D., **1974**. Variation in Aufwuchs at Six Freshwater Habitats in Terms of Carbon Biomass and of Carbon:Nitrogen Ratio. *Hydrobiologia* 45, 391–404.

Meybeck, M., Horowitz, A.J., Grosbois, C., **2004**. The geochemistry of Seine River Basin particulate matter: distribution of an integrated metal pollution index. *Sci. Total Environ.* 328, 219–236.

Möller, A., Ahrens, L., Surm, R., Westerveld, J., van der Wielen, F., Ebinghaus, R., de Voogt, P., **2010**. Distribution and sources of polyfluoroalkyl substances (PFAS) in the River Rhine watershed. *Environ. Pollut.* 158, 3243–3250.

Moody, C.A., Field, J.A., **2000**. Perfluorinated Surfactants and the Environmental Implications of Their Use in Fire-Fighting Foams. *Environ. Sci. Technol.*, 34, 3864–3870.

Muir, D., Sverko, E., **2006**. Analytical methods for PCBs and organochlorine pesticides in environmental monitoring and surveillance: a critical appraisal. *Anal. Bioanal. Chem.* 386, 769–789.

Mukarami, M., Shinohara, H., Takada, H., **2009**. Evaluation of wastewater and street runoff as sources of perfluorinated surfactants (PFSs). *Chemosphere* 74, 487–493.

Munoz, G., Giraudel, J.L., Botta, F., Lestremau, F., Dévier, M.H., Budzinski, H., Labadie, P., **2015**. Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: a French nationwide survey. *Sci. Tot. Environ.* 517, 48–56.

Munoz, G., Labadie, P., Botta, F., Lestremau, F., Lopez, B., Geneste, E., Pardon, P., Dévier, M.H., Budzinski, H. Occurrence and fate of poly and perfluoroalkyl substances (PFASs) in groundwater, surface water, and sediments from tropical environments: a case-study in Overseas France. *Submitted to Sci. Total Environ.*

Renner, R., **2001**. Growing Concern Over Perfluorinated Chemicals. Evidence of toxic effects and environmental impacts has sent researchers scrambling to obtain more data. *Environ. Sci. Technol.* 35, 154–160.

Ricart, M., Barceló, D., Geiszinger, A., Guasch, H., López de Alda, M., Romaní, A.M., Vidal, G., Villagrasa, M., Sabater, S., **2009**. Effects of low concentrations of the phenylurea herbicide diuron on biofilm algae and bacteria. *Chemosphere* 76, 1392–1401.

Roy, S., Gaillardet, J., Allègre, J.C., **1999**. Geochemistry of dissolved and suspended loads of the Seine river, France: Anthropogenic impact, carbonate and silicate weathering. *Geochim. Cosmochim. Acta* 63, 1277–1292.

Ruhí, A., Acuña, V., Barceló, D., Huerta, B., Mor, J.R., Rodríguez-Mozaz, S., Sabater, S., **2015**. Bioaccumulation and trophic magnification of pharmaceuticals and endocrine disruptors in a Mediterranean river food web. *Sci. Total Environ.*, in press.

Sabater, S., Guasch, H., Ricart, M., Romaní, A., Vidal, G., Klünder, C., Schmitt-Jansen, M., **2007**. Monitoring the effect of chemicals on biological communities. The biofilm as an interface. *Anal. Bioanal. Chem.* 387, 1425–1434.

Schultz, M.M., Barofsky, D., Field, J.A., **2004**. Quantitative Determination of Fluorotelomer Sulfonates in Groundwater by LC MS/MS. *Environ. Sci. Technol.* 38, 1828–1835.

Shan, G., Wei, M., Zhu, L., Liu, Z., Zhang, Y., **2014**. Concentration profiles and spatial distribution of perfluoroalkyl substances in an industrial center with condensed fluorochemical facilities. *Sci. Tot. Environ.* 490, 351–359.

Simcik, M.F., Dorweiler, K.J., **2005**. Ratio of Perfluorochemical Concentrations as a Tracer of Atmospheric Deposition to Surface Waters. *Environ. Sci. Technol.* 39, 8678–8683.

Teil, M.J., Tlili, K., Blanchard, M., Labadie, P., Alliot, F., Chevreuil, M., **2014**. Polychlorinated Biphenyls, Polybrominated Diphenyl Ethers, and Phtalates in Roach from the Seine River Basin (France): Impact of Densely Urbanized Areas. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 66, 41–57.

Tlili, K., Labadie, P., Alliot, F., Bourges, C., Desportes, A., Chevreuil, M., **2012**. Influence of Hydrological Parameters on Organohalogenated Micropollutant (Polybrominated Diphenyl Ethers and Polychlorinated Biphenyls) Behaviour in the Seine (France). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 62, 570–578.

Wang, F., Shih, K., Ma, R., Li, X.Y., **2015**. Influence of cations on the partition behavior of perfluoroheptanoate (PFHpA) and perfluorohexanesulfonate (PFHxS) on wastewater sludge. *Chemosphere* 131, 178–183.

Writer, J.H., Barber, L.B., Ryan, J.N., Bradley, P.M., **2011**. Biodegradation and Attenuation of Steroidal Hormones and Alkylphenols by Stream Biofilms and Sediments. *Environ. Sci. Technol.* 45, 4370–4376.

Xia, X., Rabearisoa, A.H., Dai, Z., Jiang, X., Zhao, P., Wang, H., **2015**. Inhibition effect of Na^+ and Ca^{2+} on the bioaccumulation of perfluoroalkyl substances by *Daphnia Magna* in the presence of protein. *Environ. Toxicol. Chem.* 34, 429–436.

Xie, S., Wang, T., Liu, S., Jones, K.C., Sweetman, A.J., Lu, Y., **2013**. Industrial source identification and emission estimation of perfluorooctane sulfonate in China. *Environ. Int.* 52, 1–8.

Xu, J., Guo, C.S., Zhang, Y., Meng, W., **2014**. Bioaccumulation and trophic transfer of perfluorinated compounds in a eutrophic freshwater food web. *Environ. Pollut.* 184, 254–261.

V.2. Suivi mensuel de la contamination de la colonne d'eau et des premiers maillons trophiques par les PFAS au niveau du site pilote de Pauillac (estuaire de Gironde)

Résumé

Un suivi mensuel de la contamination de la colonne d'eau et des premiers maillons du réseau trophique estuarien (copépodes, mysidacés, crevettes) a été entrepris au niveau du site de Pauillac entre octobre 2012 et octobre 2013. Les concentrations totales de PFAS (Σ PFAS) étaient de l'ordre de $6,5 \text{ ng L}^{-1}$ en phase dissoute, $3,0 \text{ ng g}^{-1}$ de poids sec en phase particulaire et $6,4 \text{ ng g}^{-1}$ de poids frais dans les invertébrés. A noter la relative stabilité des niveaux et profils de PFAS dans les différentes matrices au cours du suivi, malgré d'importantes fluctuations des paramètres hydrogéochimiques (débit fluvial, salinité, turbidité). De manière générale, les perfluoroalkyle carboxylates (PFCA) à chaîne courte ($n_C = 4-7$) dominent le profil moléculaire des PFAS en phase dissoute, alors que le perfluorooctane sulfonate (PFOS) est prépondérant en phase particulaire et dans les invertébrés. Les coefficients de distribution entre phase dissoute et phase particulaire ($\text{Log } K_D$ et $\text{Log } K_{OC}$) ainsi que les facteurs de bioaccumulation (BAF) apparaissent corrélés à la longueur de la chaîne perfluoroalkylée pour les perfluoroalkyle sulfonates (PFSA) et les PFCA. Une évaluation préliminaire des facteurs de bioamplification ($\text{BMF} = C_{\text{mysidacé}}/C_{\text{copépoide}}$) a été conduite à la base du réseau trophique estuarien. Des $\text{BMF} > 1$ ont été observés pour le PFOS, le perfluorooctane sulfonamide (FOSA) et les PFCA à longue chaîne (à savoir, PFDA et PFDoDA) pour le couple prédateur-proie considéré, suggérant l'existence d'un phénomène de bioamplification pour ces composés.

One-year monitoring of temporal variations and partitioning behavior of poly- and perfluoroalkyl substances between water, suspended particulate matter and invertebrates in a macrotidal estuary: the Gironde as a case-study

Gabriel Munoz^a, Marc Babut^b, Jérémy Lobry^c, Jonathan Selleslagh^d, Nathalie Tapie^a, Hélène Budzinski^e and Pierre Labadie^{e,*}

^a: Université de Bordeaux, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, 33400 Talence, France.

^b: UR MALY Irstea, 69626 Villeurbanne cedex, France.

^c: IRSTEA, UR EABX, 33610 Cestas, France.

^d: Université de Bordeaux, EPOC, UMR 5805, EA Research Group, 33120 Arcachon, France.

^e: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, 33400 Talence, France.

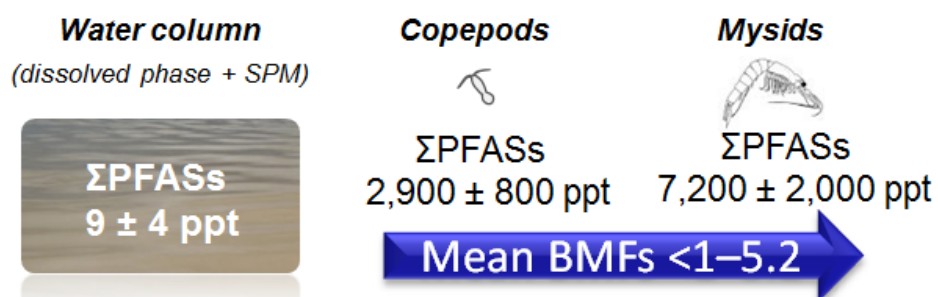
*Corresponding author.

Contact: pierre.labadie@u-bordeaux.fr

To be submitted to

Chemosphere

Graphical abstract



Highlights

- A temporal follow-up of PFASs was conducted in a macrotidal estuary (Gironde).
- Mean Σ PFASs was 6.5 ng L^{-1} in water, $3 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ in SPM and $6.4 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$ in invertebrates.
- PFAS levels and profiles were relatively stable across different seasons.
- Chain length was the key controlling factor of PFAS sorption and bioaccumulation.
- Mean biomagnification factors (BMF: mysids/copepods) were in the range $<1-5.2$.

Abstract

A one-year monitoring study was conducted in a macrotidal estuary on a monthly basis to assess the temporal variations of poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) in water, suspended particulate matter (SPM) and invertebrates (copepods, mysids, and shrimps). The sampling site was located in the Gironde estuary (SW France), a highly fluctuating environment in terms of turbidity, salinity and river water flow. Total PFAS concentrations (Σ PFASs) averaged $6.5 \pm 2.7 \text{ ng L}^{-1}$ in the dissolved phase, $3.0 \pm 1.2 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ in the SPM, and were in the range $1.7\text{--}12 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$ in zooplankton (copepods, mysids) and $2.9\text{--}13 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$ in shrimps. Little seasonal variations were observed in terms of PFAS levels and profiles: while short-chain ($\text{C}_5\text{--C}_8$) perfluoroalkyl carboxylates (PFCAs) prevailed in the dissolved phase, perfluorooctane sulfonate (PFOS) was dominant in the SPM and biota. SPM-derived partitioning coefficients $\text{Log } K_D$ and $\text{Log } K_{OC}$ correlated well with the perfluoroalkyl chain length, as did the particle-related fraction (ϕ) and bioaccumulation factors (Log BAF). In addition, Log BAFs were relatively constant over the period of this study. BMFs ($C_{\text{mysids}}/C_{\text{copepods}}$) were consistently > 1 for PFOS, perfluorooctane sulfonamide (FOSA) and long-chain PFCAs (perfluorodecanoate and perfluorododecanoate), suggesting biomagnification at the first trophic levels of the estuarine food web.

Keywords

Poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) – Seasonal variations – Suspended sediment – Invertebrates – Partitioning behavior – Gironde estuary

1. Introduction

Poly and perfluoroalkyl substances (PFASs) are highly fluorinated surfactants that have been in widespread use for decades in numerous commercial and industrial applications (Krafft and Riess, 2015). Over the past few years, there has been much concern about their toxicity and environmental fate, a flurry of monitoring surveys being initiated to assess the extent of the contamination of aquatic ecosystems with PFASs (Ahrens, 2011; Houde et al., 2011). Taken together, these findings highlight the ubiquitous prevalence of PFASs. In particular, some of the perfluoroalkyl carboxylates (PFCAs) and perfluoroalkyl sulfonates (PFSA) have been identified as persistent, toxic and bioaccumulative (Lau et al., 2007; Conder et al., 2008; Houde et al., 2011). In homologous series of PFCAs and PFSA, the logarithm of the bioaccumulation factor (Log BAF) and the number of perfluoroalkyl carbon atoms have been shown to be linearly correlated (Kwadijk et al., 2010; Labadie and Chevreuil, 2011a; Xu et al., 2014; Hong et al., 2015). Hence, long-chain PFCAs and PFOS are of particular concern, due to their higher bioaccumulation potential than shorter chain congeners. Similarly, the perfluoroalkyl chain length is a key controlling factor of PFCA and PFSA sorption onto sediment or suspended particulate matter (SPM) (Ahrens et al., 2010; Labadie and Chevreuil, 2011a; Zhang et al., 2012).

In recent years, significant progress has been achieved to elucidate the environmental fate of PFASs. However, there is still limited data about the temporal dynamics of these compounds in aquatic ecosystems (Kannan, 2011). Hitherto, temporal surveys of biota have essentially focused on inter-annual variations, over typically 20–30 years (e.g., Holmström et al., 2005; Verreault et al., 2007; Hart et al., 2008; Kratzer et al., 2011; Rigét et al., 2013). These inter-annual studies are of prime interest to evaluate the impact of recent regulations implying restrictions on C₈-based PFASs use and production. Besides, seasonal surveys can provide insightful knowledge onto the variability of PFAS levels and profiles in aquatic ecosystems at the water year scale. However, data about intra-annual variability are still relatively scarce (Labadie and Chevreuil, 2011b; Ahrens et al., 2015; Zhao et al., 2015). Although numerous partitioning studies and biomonitoring surveys have been conducted, few have actually been spatially or temporally integrated (realized at the exact same place and time period, respectively), or repeated in time to account for temporal variability (Powley et al., 2008). Possible ways to account for variations in the dissolved phase include, for instance, higher sampling frequencies (Labadie and Chevreuil, 2011b) or passive sampling (Kaserzon et al., 2012).

In the current study, a one-year monitoring survey was launched in October 2012 on a monthly basis at a single study-site from the Gironde estuary (South Western France). In an attempt to operate in repeatable conditions, sampling was always conducted during the last two hours of the high tide and consistently at medium tidal coefficients (Tapie, 2006). The sampling site (Pauillac) is located in the left-side bank of the Gironde estuary, a brackish area submitted to tides and high seasonal variations of turbidity, salinity, temperature and river flow rate. The purposes of the present survey were thus threefold: i) to examine potential seasonal variations in PFAS levels and profiles in a highly turbid environment; ii) to investigate the partitioning behavior of selected PFASs between abiotic (dissolved phase, SPM) and biotic compartments, targeting zooplankton (copepods, mysids) and nekton

(shrimps) taxa; and iii) to conduct preliminary assessment of biomagnification at the first trophic levels of the estuarine food web.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals and standards

A full list of chemicals and solvents is enclosed in the Supporting Information (SI). Analyte names, acronyms and structures are also described in the SI (**Table S1**). Certified PFAS native compounds and isotope-labeled internal standards (ISs) were all purchased from Wellington Laboratories (BCP Instruments, Irigny, France). The native PFASs purchased included PFCAs (PFBA, PFPeA, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTeDA), PFSA (PFBS, PFHxS, PFHpS, L-PFOS, PFDS), perfluorooctane sulfonamide (FOSA) and its N-alkylated derivatives (MeFOSA, EtFOSA), N-alkylated perfluorooctane sulfonamide acetic acids (MeFOSAA, EtFOSAA), and one fluorotelomer sulfonate (6:2 FTSA). Since no standards were available for PFOS branched isomers (Br-PFOS), the concentrations were calculated from the calibration curve used for the linear isomer (L-PFOS). Note that in this paper, "PFOS" refers to the sum of the linear form and branched isomers. $^{13}\text{C}_2$ -PFHxA, $^{13}\text{C}_4$ -PFOA, $^{13}\text{C}_2$ -PFDA, $^{13}\text{C}_2$ -PFUnDA, $^{13}\text{C}_2$ -PFDoDA, $^{18}\text{O}_2$ -PFHxS, $^{13}\text{C}_4$ -PFOS, d_3 -N-MeFOSAA, $^{13}\text{C}_8$ -FOSA, d_3 -N-MeFOSA, d_5 -N-EtFOSA and $^{13}\text{C}_2$ -6:2 FTSA were used as ISs.

2.2 Study site and sample collection

At the northernmost tip of the Aquitaine coastline, the Gironde estuary (SW France) is a macrotidal estuary resulting from the confluence of the Garonne and Dordogne rivers, the combined flows of which feed into the estuary at Bec d'Ambès (SI **Fig.S1**). It flows over 70 km in a general northwestern direction through landscapes alternating natural wilderness, small municipalities, and agricultural areas, before finally entering the Bay of Biscay near Le Verdon. The Gironde is characterized by a fairly permanent maximum turbidity zone, resulting from the mixing of fresh water inflows (from the Garonne and Dordogne rivers and smaller tributaries) and saltwater wedges from incoming tides (Allen et al., 1980; Sottolichio and Castaing, 1999). This estuary is of great ecological value, being an important transit point for several diadromous fish and a nursery area for numerous marine fish during their juvenile stage (Lobry et al., 2008). However, concerns have been raised with respect to specific micropollutants such as cadmium (Audry et al., 2004; Baudrimont et al., 2005) and polychlorinated biphenyls or polybrominated diphenyl ethers (Tapie et al., 2011; Bodin et al., 2014).

The temporal survey was carried out on a monthly basis from October 2012 to October 2013 at Pauillac. Located on the left-side bank of the Gironde estuary, the municipality lies approximately 20 km downstream from the confluence of the Garonne and Dordogne rivers and 50 km upstream from the mouth of the estuary (SI **Fig.S1**). Sampling was carried out at a pier that is exterior to the marina (GPS coordinates: Latitude 45.19845°D, Longitude -0.74259°D), during the last two hours of the rising

tide, at dates selected for medium tidal coefficients (mean: 55 ± 8), as described by Tapie (2006). Physical chemical parameters such as water temperature, pH, or salinity were measured in-situ (SI Table S2).

Water sampling was conducted at high tide, using a 1 L high density polyethylene bottle rinsed 3 times with the site surface water prior to sampling and storage in a cooling box. Upon arrival at the laboratory, water samples were passed through GF/F (0.7 μm) Whatman glass microfiber filters (previously baked at 400°C for 6h and weighed) using Nalgene® polyethylene filtration units. The filtrate was kept at -20°C until analysis, which occurred within 3 months. Filters were freeze-dried (24 h) and weighed to determine the SPM concentration.

A cone-shaped WP-2 net (mesh: 200 μm) was deployed to collect the organisms considered in this study, starting two hours before high tide. Every 5-10 minutes, the net was hauled in and emptied above stacked sieves (mesh sizes: 2 mm, 500 μm and 200 μm). White shrimp (*Palaemon longirostris*), brown shrimp (*Crangon crangon*), and mysids (*Mysidacea, ind.*) were collected and separated in the field, being stored in 50 mL polypropylene centrifuge tubes following sacrifice. Any other species were returned immediately to the water. Copepods (*Copepoda, ind.*) were preserved in a 10 L bottle containing water from the estuary. In the laboratory, the copepod catch was mixed (1:1 v/v) with spring water (adjusted to the adequate salinity) in 4 L glass beakers (Tapie, 2006). After decantation of particles and dead animals, live copepods were retrieved from the medium and left overnight in 4 L glass beakers containing Volvic spring water (adjusted to the adequate salinity) and equipped with submerged aerators and an overhanging light source. Particle-free copepods were finally recovered in the 200 μm mesh and stored in 15 mL polypropylene centrifuge tubes. Biota samples were stored at -20 °C, freeze-dried (72 h), and finely ground with pestle and mortar.

2.3. Sample preparation, extraction and analysis

ISs (1 or 2 ng each) were gravimetrically added to the samples at the beginning of the extraction procedure. The extraction methods for water and biota samples are fully described elsewhere (Munoz et al., 2015; Munoz et al., submitted). Briefly, water samples (1 L) were concentrated using solid phase extraction on Strata X-AW cartridges (200 mg/6 mL), while biota samples (0.25 g dry weight (dw)) underwent a microwave extraction with MeOH prior to Strata X-AW (200 mg/6 mL) and ENVI-Carb graphite (250 mg/6 mL) clean-up. In the case of the suspended particulate matter (SPM), analytes were extracted by microwave extraction with MeOH, followed by ENVI-Carb graphite (250 mg/6 mL) clean-up. The resulting extracts were concentrated to 300 μL (N_2 , 42°C) and transferred into polypropylene injection vials.

PFAS analyses were performed with an Agilent 1200 LC system interfaced with an Agilent 6460 triple quadrupole mass spectrometer (Agilent Technologies, Massy, France). Full details on PFAS chemical analyses are provided elsewhere (Munoz et al., 2015).

2.4. Quality control and data analysis

Method performance was evaluated through the analysis of spiked samples. Recoveries were in the range 53–115 %, 60–119 % and 52–119 % for Vittel mineral water ($n = 3$), reference sediment (surrogate for SPM) ($n = 3$) and brown trout filets from the Kerguelen archipelago (Southern Ocean) ($n = 3$), respectively, relative standard deviations (RSD) remaining below 25 % (SI **Table S3**). In addition, a reference matrix (NIST SRM 1947 Lake Michigan Fish Tissue) was analyzed to evaluate method trueness; the values determined for PFOS varied between 79–96 % of those of NIST or Environment Canada, with a resulting RSD of < 3 % (SI **Fig.S2**).

Instrumental blanks remained exempt from analytes and ISs. Procedural blanks were performed with 0.5 L of Vittel spring water for water samples and with 10 mL of MeOH for SPM and biota samples (SI **Table S4**). Limits of detection (LODs) were determined following the procedure described elsewhere (Munoz et al., 2015). LODs were in the range 0.002–0.15 ng L⁻¹, 0.001–0.13 ng g⁻¹ dw and 0.001–0.10 ng g⁻¹ ww for the dissolved phase, SPM and biota samples, respectively.

Statistical significance was set at a 0.05 p-value threshold. The R software (R version 2.15.3, R Core Team, 2013) and SigmaplotTM 11.0 (Systat Software) were used to conduct data analysis.

3. Results and discussion

3.1. Seasonal variability of hydro-physical parameters

Water temperatures ranged from 6.6–8.7 °C during winter months to 19–25.7 °C during summer months. The estimated daily average flow rate at Pauillac ranged from 170 to 4,700 m³ s⁻¹ over the whole study period (SI **Fig.S3**) and from 251 to 1,847 m³ s⁻¹ for the days of sampling (SI **Table S2**). The lowest salinities were observed from January to June (0–2.7 ‰) when flow rate was maximum, while the highest salinities (4.5–11.6 ‰) were observed from July to December, consistent with observations by Selleslagh et al. (2012) (SI **Fig.S4**). No clear seasonal pattern emerged regarding SPM, subject to wide variations (130–1,900 mg L⁻¹).

3.2. Seasonal variations of PFAS levels and profiles in the water column

In the dissolved phase, C₅–C₁₀ PFCAs, PFBS, PFHxS and PFOS displayed the highest detection frequencies (12/12), followed by PFHpS (11/12), 6:2 FTSA and FOSA (9/12). PFAS molecular patterns were dominated by C₅–C₈ PFCAs, PFHxS and PFOS with overall little variations across the time period of this study, each group accounting for 47 ± 12 %, 14 ± 3 %, and 17 ± 5 % of ΣPFASs, respectively (**Fig.1a**). The median ΣPFASs was 6.2 ng L⁻¹, close to the 7.9 ng L⁻¹ median reported at French nationwide scale in a previous survey on 133 rivers and lakes (Munoz et al., 2015). ΣPFASs only varied up to a factor of 3, oscillating between 3.5 ng L⁻¹ (March 2013) to 11 ng L⁻¹ (December 2012). Hence, it can be speculated that dissolved PFAS levels are relatively stable on an annual time scale in the Gironde estuary (**Fig.1a**) compared to riverine systems (e.g., Labadie and Chevreuil, 2011b). We observed a median concentration for PFOS of 1.1 ng L⁻¹ (mean = 1.04 ± 0.33 ng L⁻¹, range: 0.48–1.6 ng L⁻¹), about 20 times below that determined in the River Seine downtown Paris (Labadie and Chevreuil, 2011b). The lower PFOS levels observed in the dissolved phase are likely due to the much higher dilution capability of the Gironde and higher SPM load which may act as a non-negligible sink for hydrophobic PFASs such as PFOS. Although the Garonne River drains waters from cities of Toulouse and Bordeaux, much lower urban or industrial inputs are expected than in the Paris region.

Compared to dissolved levels, PFAS concentrations in SPM samples were quite variable during the time period of the study (ΣPFASs range: 1.2–5.6 ng g⁻¹ dw; median = 2.7 ng g⁻¹ dw) (**Fig.1b**). Meanwhile, the congener profile remained essentially the same during the time period of this study: PFOS was the prevailing congener, remaining steadily at 58 ± 7 % of ΣPFASs. Of these, nearly 70 % could be attributed to L-PFOS (Vs ~ 30% for Br-PFOS), in excellent agreement with the distribution of PFOS isomers in sediments (e.g., Houde et al., 2008). In contrast, medium to long-chain PFCAs were less prominent (e.g., 9.0 ± 1.9 % and 5.7 ± 0.8 % of ΣPFASs for PFDA and PFUnDA, respectively).

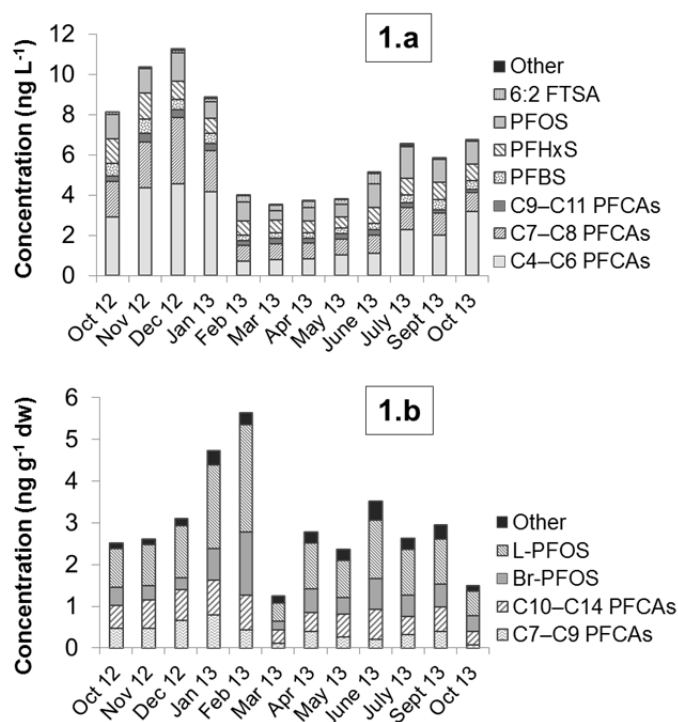


Fig.1. Seasonal variations in PFAS concentrations observed at Pauillac (Gironde estuary) in the dissolved phase (ng L⁻¹) (**1.a**) and suspended particulate matter (ng g⁻¹ dw) (**1.b**).

Correlations between PFAS levels in the water column (dissolved phase + SPM) and relevant environmental parameters were tentatively investigated through the calculation of Spearman's rank order coefficients (SI **Table S5**). PFCAs and PFOS levels were highly correlated to each other and to Σ PFASs, pointing to similar sources or environmental fate. In contrast, 6:2 FTSA was related in a negative fashion to Σ PFASs, which may reflect the existence of distinctive sources for this compound. Dissolved PFOS or PFCA levels were not significantly correlated to daily flow rate, unakin to previous observations in the river Seine (Labadie and Chevreuil, 2011b; Munoz et al., submitted). This indicates that inputs from diffuse sources such as urban runoff or atmospheric deposition may be relatively important compared to point-sources in the Gironde estuary. Likewise, Σ PFASs was correlated to monthly rainfall (Spearman's $\rho = 0.58$), as were short-chain and medium-chain PFCAs (Spearman's $\rho = 0.55$), which seems to substantiate the prevalence of diffuse sources. The examination of PFHpA/PFOA ratios in the dissolved phase revealed higher values from July to October (1.02–1.35), months that displayed the highest rainfall to flow rate ratios (SI **Fig.S5-S6**), suggesting an increase of the relative importance of atmospheric wet deposition at these sampling dates (Simcik and Dorweiler, 2005). Conversely, PFHpA/PFOA ratios dropped in the narrow range 0.45–0.51 from February to April, a potential outcome of the dilution of atmospheric inputs.

3.3. Particle-water partitioning of PFASs

The suspended solid-water partition coefficient (K_D) was determined by dividing the PFAS concentration in the SPM (in ng kg^{-1} dw) by that of the dissolved phase (in ng L^{-1}), provided that analytes were found in both compartments (“matching pairs” method). The average $\text{Log } K_D$ was in the range 2.0–3.8 for C_7 – C_{11} PFCAs and 1.9–3.4 for C_6 – C_8 PFSAAs (**Table 1**). An illustration of the variability of $\text{Log } K_D$ values at the water year scale is provided in **Fig.2a**.

The sediment organic carbon–water partitioning coefficient (K_{OC}) was derived from (Eq.1): $K_{OC} = 100 \times K_D / f_{OC}$ (**Eq.1**), where f_{OC} is the SPM organic carbon fraction (range: 1.6–2.7 %). Average $\text{Log } K_{OC}$ was in the range 3.6–5.2 for the compounds considered (**Table 1**) and $\text{Log } K_{OC}$ evolved in a linearly fashion ($R^2 > 0.993$) with perfluoroalkyl chain length.

The particle-related PFAS fraction (ϕ) was determined by dividing the PFAS concentration in the SPM by the total PFAS concentration in water (dissolved phase + SPM). For PFSAAs, ϕ varied from 6.5 ± 2 % for PFHxS to 62 ± 14 % for L-PFOS (**Fig.2b**). For PFCAs, ϕ increased exponentially with perfluoroalkyl chain length, concurring with previous observations by Ahrens et al. (2010) in the Tokyo Bay (**Fig.2c**). The relatively high ϕ values observed for PFDA or PFUnDA in our case (50–87 and 58–97 %, respectively) may be related to the much higher suspended solid concentrations than those reported in the Tokyo Bay (130–1900 Vs 3–5 mg L^{-1}). This also implies that the ingestion of suspended sediments may be a significant exposure pathway to long-chain PFASs for estuary wildlife.

3.4. PFAS bioaccumulation and biomagnification at the base of the estuarine food web

Among the biota samples, the mean ΣPFASs (expressed in ng g^{-1} wet weight whole body (ww w-b)) decreased in the following order: brown shrimps ($11 \pm 2 \text{ ng g}^{-1}$ ww w-b) > mysids ($7.2 \pm 2.0 \text{ ng g}^{-1}$ ww w-b) > white shrimps ($4.5 \pm 1.2 \text{ ng g}^{-1}$ ww w-b) > copepods ($2.9 \pm 0.8 \text{ ng g}^{-1}$ ww w-b). These levels fall in the same order of magnitude as those observed by Loi et al. (2011) in Mai Po Marshes (Hong Kong) for zooplankton and shrimps (3.0 ± 0.9 and 3.80 – 4.70 ng g^{-1} ww w-b, respectively).

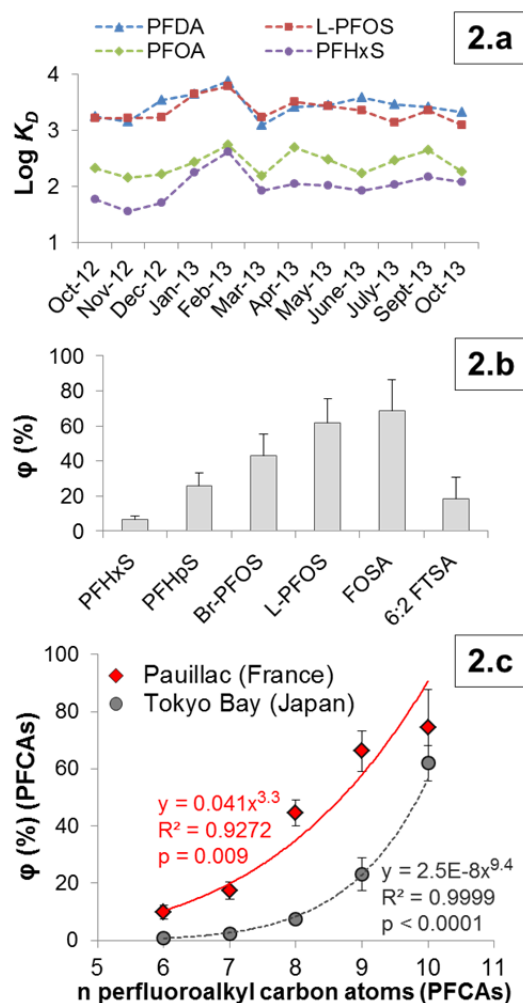


Fig.2. Partitioning behavior of PFASs between the dissolved and particulate phases of the water column at Pauillac (Gironde estuary) ($n=12$). **(2.a)** Year-round variations of Log K_D partitioning coefficient illustrated for PFCAs (PFOA, PFDA) and PFASs (PFHxS, L-PFOS); **(2.b)** Average particle-related fraction (ϕ) for PFASs, FOSA and 6:2 FTSA; and **(2.c)** Relationship between the particle-related fraction (ϕ) and the PFCA perfluoroalkyl chain length at Pauillac (solid line), in comparison to results reported by Ahrens et al. (2010) in the Tokyo Bay (dashed line). Error bars represent standard deviations.

Table 1. Field-based partitioning coefficients measured at Pauillac (mean \pm standard deviation), including SPM-derived Log K_D and Log K_{OC} partitioning coefficients, as well as bioaccumulation factors (BAF = $C_{\text{biota}}(\text{ng kg}^{-1} \text{ ww}) / C_{\text{dissolved phase}}(\text{ng L}^{-1})$) and biota to suspended solid accumulation factors (BSSAF = $C_{\text{biota}}(\text{ng kg}^{-1} \text{ ww}) / C_{\text{SPM}}(\text{ng g}^{-1} \text{ dw})$).

	Water-SPM		Copepoda, ind.		Mysidacea, ind.		Palaemon longirostris		Crangon crangon	
	Log K_D	Log K_{OC}	Log BAF	BSSAF	Log BAF	BSSAF	Log BAF	BSSAF	Log BAF	BSSAF
PFHpA	2.0 \pm 0.4	3.7 \pm 0.4	2.5 \pm 0.2	2.4	-	-	-	-	-	-
PFOA	2.4 \pm 0.2	4.1 \pm 0.2	2.5 \pm 0.2	1.2 \pm 0.7	2.5	1.7	2.3 \pm 0.2	0.7 \pm 0.3	2.5 \pm 0.3	1.1 \pm 0.4
PFNA	2.9 \pm 0.2	4.6 \pm 0.2	2.8 \pm 0.2	0.7 \pm 0.3	2.9 \pm 0.2	1.1 \pm 0.6	2.9 \pm 0.3	1.0 \pm 0.6	3.7 \pm 0.3	4.3 \pm 1.4
PFDA	3.4 \pm 0.2	5.1 \pm 0.2	3.3 \pm 0.2	0.9 \pm 0.8	3.5 \pm 0.3	1.3 \pm 0.7	3.3 \pm 0.2	0.8 \pm 0.4	4.0 \pm 0.3	4.6 \pm 2.7
PFUnDA	3.8 \pm 0.3	5.4 \pm 0.3	3.7 \pm 0.2	1.2 \pm 1.0	3.7 \pm 0.3	1.1 \pm 0.6	3.7 \pm 0.2	1.0 \pm 0.5	4.1 \pm 0.2	4.0 \pm 1.9
PFDODA	-	-	-	1.0 \pm 0.3	-	1.6 \pm 0.6	-	2.2 \pm 0.8	-	3.4 \pm 1.5
PFTTrDA	-	-	-	2.3	-	2.8 \pm 0.4	-	4.6 \pm 2.2	-	4.8 \pm 1.8
PFTeDA	-	-	-	-	-	-	-	3.8	-	-
PFHxS	1.9 \pm 0.3	3.7 \pm 0.3	2.0 \pm 0.2	1.3 \pm 0.9	1.9 \pm 0.4	0.9 \pm 0.5	1.9 \pm 0.2	1.1 \pm 0.7	2.4 \pm 0.2	4.1 \pm 2.8
PFHpS	2.6 \pm 0.2	4.3 \pm 0.3	3.1	-	3.2 \pm 0.3	-	2.9 \pm 0.2	-	3.3 \pm 0.1	-
Br-PFOS	3.0 \pm 0.3	4.7 \pm 0.2	2.7 \pm 0.2	0.7 \pm 0.3	3.1 \pm 0.2	1.5 \pm 0.8	2.4 \pm 0.2	0.3 \pm 0.2	3.0 \pm 0.1	1.4 \pm 0.4
L-PFOS	3.4 \pm 0.2	5.0 \pm 0.2	3.4 \pm 0.2	1.4 \pm 0.9	3.9 \pm 0.2	3.8 \pm 2.2	3.4 \pm 0.2	1.2 \pm 0.7	3.9 \pm 0.1	4.6 \pm 1.9
EtFOSAA	-	-	-	1.1 \pm 0.5	-	0.9	-	1.9 \pm 1.3	-	1.9 \pm 1.6
FOSA	3.5 \pm 0.2	5.3 \pm 0.2	4.1 \pm 0.4	4.8 \pm 3.8	4.9 \pm 0.2	20 \pm 11	4.8 \pm 0.3	21 \pm 11	5.0 \pm 0.4	29 \pm 9
MeFOSA	-	-	-	3.1	-	-	-	-	-	-
6:2 FTSA	2.4 \pm 0.2	4.0 \pm 0.2	-	-	-	-	-	-	-	-

Seasonal variations of Σ PFASs for copepods and mysids are shown in **Fig.3a**. Over the time period of this study, Σ PFASs varied only up to a factor of 2.5 for zooplankton and 2.3 for shrimps, which further highlights the relative stability of PFAS levels in this ecosystem. The increasing Σ PFAS trend observed for mysids in the spring-summer months (**Fig.3a**) may be attributed to the concomitant increase in prey density (i.e., copepods). In addition, shifts in mysid communities from *Neomysis integer* to *Mesopodopsis slabberi* typically occur from April to August (David et al., 2005); therefore, grazing of vegetal particulate organic matter (POM) or periphyton may be another key PFAS exposure route for mysids in the spring-summer months, especially for *Mesopodopsis slabberi* (*Neomysis integer* being rather carnivorous, feeding primarily on copepods) (David et al., 2006).

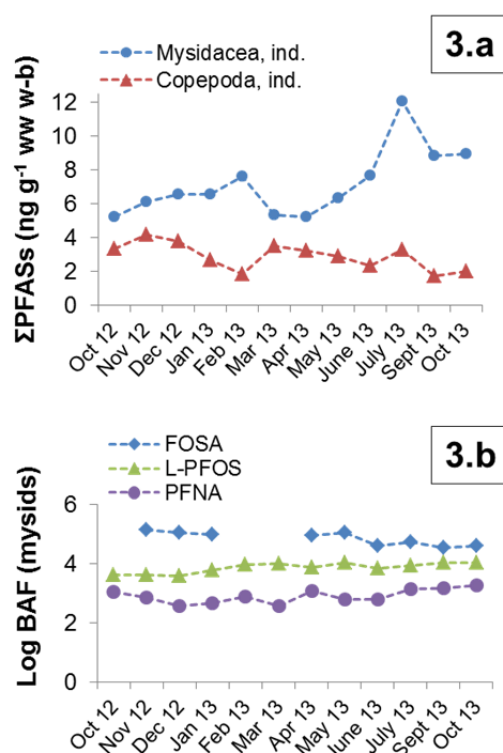


Fig.3. Temporal trends of Σ PFASs illustrated for zooplankton (**3.a**), and year-round follow-up of the bioaccumulation factor (Log BAF) in the case of mysids, illustrated for FOSA, L-PFOS and PFNA (**3.b**).

Mean PFAS composition profiles are shown in the SI (**Fig.S7**). In zooplankton, PFOS dominated the PFAS pattern (56 ± 7 % and 60 ± 8 % of Σ PFASs for copepods and mysids, respectively), in line with observations by Loi et al. (2011) who reported a mean PFOS abundance of ~ 57 % for zooplankton. Interestingly, FOSA was the dominant congener in white shrimps, followed by PFOS (35 ± 5 and 30 ± 8 % of Σ PFASs, respectively). Equally noteworthy, the relative contribution of FOSA to the PFAS profile was significantly higher in shrimps than in copepods (31 ± 9 % Vs 12 ± 3 % of Σ PFASs). The distinctive PFAS pattern observed in shrimps may be a consequence of their lower metabolic capacity to transform FOSA and FOSA-like compounds to PFOS, another conclusive evidence to support this being the relatively high abundance observed for N-alkylated perfluorooctane sulfonamide acetic acids

(~ 9 % of Σ PFASs) (SI **Fig.S7**). Tomy et al. (2004) also reported EtFOSA concentrations greatly exceeding those of PFOS for shrimps (*Pandalus borealis*; *Hymenodora glacialis*) from an Eastern Arctic marine food web, which seems to corroborate our observations. In addition, the metabolism of other perfluoroalkyl compounds not included in the present survey could have contributed to the relatively high FOSA levels observed in shrimps (D'Agostino and Mabury, 2014).

When applicable, bioaccumulation factors (BAFs) were calculated as the ratio of the concentration in biota (ng kg^{-1} ww) to that in the water (ng L^{-1}) (dissolved phase) for each species and each sampling date (**Table 1**).

Mean Log BAFs were generally comparable in zooplankton and shrimps, in contrast to observations from Taihu Lake (China) where Log BAFs were ~ 0.6–1.6 log units higher in shrimps than in zooplankton (Xu et al., 2014). An illustration of the year-round variations of Log BAFs is provided in **Fig.3b**. Overall, Log BAFs remained relatively constant, suggesting that PFAS concentrations in zooplankton and nekton were under near-equilibrium conditions with those in the dissolved phase. Exceedances of the “very bioaccumulative” (vB) criteria (i.e., bioconcentration factor > 5,000) set out in Annex XIII of REACH (<http://www.reachonline.eu/REACH/EN/REACH_EN/articleXIII.html>) were observed for L-PFOS, PFUnDA and FOSA (mean Log BAF = 3.4–3.9, 3.7–4.1 and 4.1–5.0, respectively) (**Table 1**). Log BAFs increased in a linearly fashion with increasing perfluoroalkyl chain length, each additional $-\text{CF}_2$ moiety contributing to an increase of 0.32–0.44 log unit for PFCAs and 0.71–1.0 log unit for PFSA (SI **Fig.S8**). These figures are in overall acceptable agreement with reports for other biological models including European eel (*Anguilla anguilla*), European chub (*Squalius cephalus*) and European perch (*Perca fluviatilis*) (Kwadijk et al., 2010; Labadie and Chevreuil, 2011a; Ahrens et al., 2015). Note that in the particular case of brown shrimps (*Crangon crangon*), the Log BAF increased 1.2 log unit between PFOA and PFNA, but plateaued for C_9 – C_{11} PFCAs. Biota to suspended sediment accumulation factors (BSSAF) were assessed likewise, and were in the range 0.3–29 for the compounds considered (**Table 1**). Preliminary assessment of biomagnification factors ($\text{BMF} = C_{\text{predator}}/C_{\text{prey}}$) was conducted for mysids/copepods (SI **Fig.S9**). With the exception of PFHxS, average BMFs were > 1, the highest values being reported for L-PFOS and FOSA (3.3 ± 2.1 and 5.2 ± 2.5 , respectively). Only did we find BMFs consistently > 1 (95 % confidence interval ($\text{CI}_{95\%}$)) for PFDA ($\text{CI}_{95\%} = [1.3; 3.5]$), PFDoDA ($\text{CI}_{95\%} = [1.3; 2.2]$), Br-PFOS ($\text{CI}_{95\%} = [1.8; 3.5]$), L-PFOS ($\text{CI}_{95\%} = [2.1; 4.5]$), and FOSA ($\text{CI}_{95\%} = [3.8; 6.6]$), suggesting that biomagnification of these compounds is occurring at the first trophic levels of the estuarine food web.

4. Conclusions

The present survey explored the year-round variations of a wide range of PFASs in a highly turbid macrotidal estuary. Overall, PFAS levels and profiles remained remarkably constant over the time period of the study (e.g., overall RSD of PFOS relative abundance < 15 % for the water column or zooplankton, < 27 % for white shrimps and < 8 % for brown shrimps). PFAS levels were not

significantly correlated to flow rate, which may indicate the prevalence of diffuse PFAS sources such as urban runoff or atmospheric deposition at this site. Field-based distribution coefficients (K_D , K_{OC} , BAF) were little affected by seasonal variations. The magnitude of the suspended solid loads (130–1,900 mg L⁻¹) implies that, in the water column, long-chain perfluoroalkyl carboxylates and sulfonates are mainly bound to the SPM ($\varphi > 60\%$). From an ecotoxicological standpoint, this could entail different PFAS exposure pathways for organisms dwelling in the maximum turbidity zone of estuaries, via the ingestion of POM. Biomagnification factors (BMFs) were consistently > 1 for PFOS, FOSA, and long-chain PFCAs (PFDA and PFDoDA). This constitutes preliminary evidence that biomagnification is indeed occurring at the base of the Gironde estuary food web. Future work should further examine the influence of trophic position on PFAS levels to evaluate the transfer potential of PFASs in estuarine food webs.

Acknowledgments

This study has been carried out under the framework of the PFC-Gironde CNRS project (EC2CO-Ecodyn INSU) and with financial support from the French National Research Agency (ANR), in the frame of the Investments for the future Program, within the Cluster of Excellence COTE (ANR-10-LABX-45). The authors also acknowledge funding from the INTERREG ORQUE SUDOE project (SOE3/P2/F591) as well as the Aquitaine Regional Council and the European Union (CPER A2E project). Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund (FEDER). The authors are indebted to Mariange Cornet, Virginie Bocquet, Patrick Pardon, Dominique Poirier and Gwenaél Abril for their contribution to this study. Year-round daily data of salinity and turbidity at Pauillac were supplied by MAGEST (Réseau de surveillance automatisée du système estuarien Garonne–Dordogne–Gironde). IdEx Bordeaux (ANR-10-IDEX-03-02) provided the PhD grant allocated to G. Munoz.

References

- Ahrens, L., Taniyasu, S., Yeung, L.W.Y., Yamashita, N., Lam, P.K.S., Ebinghaus, R., **2010**. Distribution of polyfluoroalkyl compounds in water, suspended particulate matter and sediment from Tokyo Bay, Japan. *Chemosphere* 79, 266–272.
- Ahrens, L., **2011**. Polyfluoroalkyl compounds in the aquatic environment: a review of their occurrence and fate. *J. Environ. Monit.*, 13, 20–31.
- Ahrens, L., Norström, K., Viktor, T., Cousins, A.P., Josefsson, S., **2015**. Stockholm Arlanda Airport as a source of per- and polyfluoroalkyl substances to water, sediment and fish. *Chemosphere* 129, 33–38.
- Allen, G.P., Salomon, J.C., Bassoullet, P., Du Penhoat, Y., De Grandpré, C., **1980**. Effects of tides on mixing and suspended sediment transport in macrotidal estuaries. *Sedim. Geol.* 26, 69–90.

- Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Jouanneau, J.M., **2004**. Fifty-year sedimentary record of heavy metal pollution (Cd, Zn, Cu, Pb) in the Lot River reservoirs (France). *Environ. Pollut.*, 132, 413–426.
- Baudrimont, M., Schäfer, J., Marie, V., Maury-Brachet, R., Bossy, C., Boudou, A., Blanc, G., **2005**. Geochemical survey and metal bioaccumulation of three bivalve species (*Crassostrea gigas*, *Cerastoderma edule* and *Ruditapes philippinarum*) in the Nord Médoc salt marshes (Gironde estuary, France). *Sci. Total Environ.* 337, 265–280.
- Bodin, N., Tapie, N., Le Ménach, K., Chassot, E., Elie, P., Rochard, E., Budzinski, H., **2014**. PCB contamination in fish community from the Gironde Estuary (France): Blast from the past. *Chemosphere* 98, 66–72.
- Conder, J.M., Hoke, R.A., De Wolf, W., Russell, M.H., Buck, R.C., **2008**. Are PFCAs Bioaccumulative? A Critical Review and Comparison with Regulatory Criteria and Persistent Lipophilic Compounds. *Environ. Sci. Technol.* 42, 995–1003.
- D'Agostino, L.A., Mabury, S.A., **2014**. Identification of novel fluorinated surfactants in aqueous film forming foams and commercial surfactant concentrates. *Environ. Sci. Technol.* 48, 121–129.
- David, V., Sautour, B., Chardy, P., Leconte, M., **2005**. Long-term changes of the zooplankton variability in a turbid environment: the Gironde estuary (France). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 64, 171–184.
- David, V., Sautour, B., Galois, R., Chardy, P., **2006**. The paradox high zooplankton biomass–low vegetal particulate organic matter in high turbidity zones: What way for energy transfer? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 333, 202–218.
- Hart, K., Kannan, K., Isobe, T., Takashani, S., Yamada, T., Miyazaki, A., Tanabe, S., **2008**. Time trends and transplacental transfer of perfluorinated compounds in melon-headed whales stranded along the Japanese coast in 1982, 2001/2002, and 2006. *Environ. Sci. Technol.* 42, 7132–7137.
- Holmström, K.E., Järnberg, U., Bignert, A., **2005**. Temporal trends of PFOS and PFOA in guillemot eggs from the Baltic Sea, 1968–2003. *Environ. Sci. Technol.* 39, 80–84.
- Hong, S., Khim, J.S., Park, J., Kim, M., Kim, W.K., Jung, J., Hyun, S., Kim, J.G., Lee, H., Choi, H.J., Codling, G., Giesy, J.P., **2013**. In situ fate and partitioning of waterborne perfluoroalkyl acids (PFAAs) in the Youngsan and Nakdong River Estuaries of South Korea. *Sci. Total Environ.* 445–446, 136–145.
- Hong, S., Khim, J.S., Wang, T., Naile, J.E., Park, J., Kwon, B.O., Song, S.J., Ryu, J., Codling, G., Jones, P.D., Lu, Y., Giesy, J.P., **2015**. Bioaccumulation characteristics of perfluoroalkyl acids (PFAAs) in coastal organisms from the west coast of South Korea. *Chemosphere* 129, 157–163.
- Houde, M., Czub, G., Small, J.L., Backus, S., Wang, X., Alae, M., Muir, D.C.G., **2008**. Fractionation and bioaccumulation of perfluorooctane sulfonate (PFOS) isomers in a lake Ontario food web. *Environ. Sci. Technol.* 42, 9397–9403.
- Houde, M., De Silva, A.O., Muir, D.C.G., Letcher, R.J., **2011**. Monitoring of Perfluorinated Compounds in Aquatic Biota: An Updated Review. *Environ. Sci. Technol.* 45, 7962–7973.
- Kannan, K., **2011**. Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances: Current and Future Perspectives. *Environ. Chem.* 8, 333–338.

Kaserzon, S.L., Kennedy, K., Hawker, D.W., Thompson, J., Carter, S., Roach, A.C., Booij, K., Mueller, J.F., **2012**. Development and Calibration of a Passive Sampler for Perfluorinated Alkyl Carboxylates and Sulfonates in Water. *Environ. Sci. Technol.* 46, 4985–4993.

Krafft, M.P., Riess, J.G., **2015**. Selected physicochemical aspects of poly- and perfluoroalkylated substances relevant to performance, environment and sustainability – Part one. *Chemosphere* 129, 4–19.

Kratzer, J., Ahrens, L., Roos, A., Bäcklin, B.M., Ebinghaus, R., **2011**. Reprint of: Temporal trends of polyfluoroalkyl compounds (PFCs) in liver tissue of grey seals (*Halichoerus grypus*) from the Baltic Sea, 1974–2008. *Chemosphere* 85, 253–261.

Kwadijk, C.J.A.F., Korytár, P., Koelmans, A.A., **2010**. Distribution of Perfluorinated Compounds in Aquatic Systems in the Netherlands. *Environ. Sci. Technol.* 44, 3746–3751.

Labadie, P., Chevreuil, M., **2011a**. Partitioning behavior of perfluorinated alkyl contaminants between water, sediment and fish in the Orge River (nearby Paris, France). *Environ. Pollut.* 159, 391–397.

Labadie, P., Chevreuil, M., **2011b**. Biogeochemical dynamics of perfluorinated alkyl acids and sulfonates in the River Seine (Paris, France) under contrasting hydrological conditions. *Environ. Pollut.* 159, 3634–3639.

Lau, C., Anitole, K., Hodes, C., Lai, D., Pfahles-Hutchens, A., Seed, J., **2007**. Perfluoroalkyl Acids: A Review of Monitoring and Toxicological Findings. *Toxicol. Sci.* 99, 366–394.

Lobry, J., David, V., Pasquaud, S., Lepage, M., Sautour, B., and Rochard, E., **2008**. Diversity and stability of an estuarine trophic network. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 35, 13–25.

Loi, E.I.H., Yeung, L.W.Y., Taniyasu, S., Lam, P.K.S., Kannan, K., Yamashita, N., **2011**. Trophic magnification of poly- and perfluoroalkyl compounds in a subtropical food web. *Environ. Sci. Technol.* 45, 5506–5513.

Munoz, G., Giraudel, J.L., Botta, F., Lestremau, F., Dévier, M.H., Budzinski, H., Labadie, P., **2015**. Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: A French nationwide survey. *Sci. Total Environ.* 517, 48–56.

Munoz, G., Simonnet-Laprade, C., Pardon, P., Budzinski, H., Labadie, P. Analysis of poly and perfluorinated compounds in fish matrices: optimization of a microwave assisted extraction method. Submitted to *J. Chromatogr. A*.

Munoz, G., Fechner, L., Budzinski, H., Labadie, P. Spatio-temporal dynamics of perfluoroalkylated compounds and transfer to periphytic biofilm in an urban river: case-study on the River Seine. Submitted to *Environ. Sci. Pollut. Res.*

Powley, C.R., George, S.W., Russell, M.H., Hoke, R.A., Buck, R.C., **2008**. Polyfluorinated chemicals in a spatially and temporally integrated food web in the Western Arctic. *Chemosphere* 70, 664–672.

Rigét, F., Bossi, R., Sonne, C., Vorkamp, K., Dietz, R., **2013**. Trends of perfluorochemicals in Greenland ringed seals and polar bears: Indications of shifts to decreasing trends. *Chemosphere* 93, 1607–1614.

Selleslagh, J., Lobry, J., N'Zigou, A.R., Bachelet, G., Blanchet, H., Chaalali, A., Sautour, B., Boët, P., **2012**. Seasonal succession of estuarine fish, shrimps, macrozoobenthos and plankton: Physico-chemical and trophic influence. The Gironde estuary as a case study. *Est. Coast. Shelf Sci.* 112, 243–254.

- Simcik, M.F., Dorweiler, K.J., **2005**. Ratio of Perfluorochemical Concentrations as a Tracer of Atmospheric Deposition to Surface Waters. *Environ. Sci. Technol.* 39, 8678–8683.
- Sottolichio, A., Castaing, P., **1999**. A synthesis on seasonal dynamics of highly-concentrated structures in the Gironde estuary. *C.R. Acad. Sci. Sér. II Fasc.A-Sci. Terre Planètes* 329, 795–800.
- Tapie, N., **2006**. Contamination des écosystèmes aquatiques par les PCB et PBDE : Application à l'estuaire de la Gironde. PhD thesis.
- Tapie, N., Le Menach, K., Pasquaud, S., Elie, P., Devier, M.H., Budzinski, H., **2011**. PBDE and PCB contamination of eels from the Gironde estuary: From glass eels to silver eels. *Chemosphere* 83, 175–185.
- Tomy, G.T., Budakowski, W., Halldorson, T., Helm, P.A., Stern, G.A., Friesen, K. Pepper, K., Tittlemier, S.A., Fisk A.T., **2004**. Fluorinated organic compounds in an eastern arctic marine food web. *Environ. Sci. Technol.* 38, 6475–6481.
- Verreault, J., Berger, U., Gabrielsen, G.W., **2007**. Trends of perfluorinated alkyl substances in herring gull eggs from two coastal colonies in northern Norway: 1983-2003. *Environ. Sci. Technol.* 41, 6671–6677.
- Xu, J., Guo, C.S., Zang, Y., Meng, W., **2014**. Bioaccumulation and trophic transfer of perfluorinated compounds in a eutrophic freshwater food web. *Environ. Pollut.* 184, 254–261.
- Zhao, Z., Xie, Z., Tang, J., Sturm, R., Chen, Y., Zhang, G., Ebinghaus, R., **2015**. Seasonal variations and spatial distributions of perfluoroalkyl substances in the rivers Elbe and lower Weser and the North Sea. *Chemosphere*, 129, 118–125.
- Zhang, Y., Meng, W., Guo, C., Xu, J., Yu, T., Fan, W., Li, L., **2012**. Determination and partitioning behavior of perfluoroalkyl carboxylic acids and perfluorooctanesulfonate in water and sediment from Dianchi Lake, China. *Chemosphere* 88, 1292–1299.

V.3. Bioamplification des PFAS en milieu estuarien : étude de cas du réseau trophique de la Gironde

Résumé

Dans la continuité du chapitre précédant, cette étude examine la bioaccumulation et la bioamplification de dix-neuf composés perfluoroalkylés (PFAS) à travers 18 taxons (N = 147 échantillons) prélevés dans un estuaire macrotidal de forte turbidité, la Gironde. Les niveaux totaux de PFAS (Σ PFASs) sont de l'ordre de 4,2–7,9 ng L⁻¹ en phase dissoute, 0,93–1,6 ng g⁻¹ de poids sec dans les sédiments, et 0,66–45 ng g⁻¹ de poids frais dans l'organisme entier pour le biote. Point à souligner, le profil particulier de PFAS observé pour les organismes benthiques, caractérisés par de plus fortes contributions en perfluoroalkyle carboxylates de moyenne longueur de chaîne (ex : PFOA, PFNA) que dans le cas des organismes démersaux. Les facteurs de bioamplification par voie trophique (TMF) ont été déterminés par des modèles linéaires mixtes avec prise en compte des valeurs censurées, permettant de considérer la variabilité interspécifique des rapports des isotopes stables de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$) ainsi que celle des teneurs de PFAS, et de contourner le biais potentiel lié aux techniques de substitution classiques des données tombant sous le seuil des limites de détection. Si dans le réseau démersal des TMF relativement faibles sont observés pour les PFAS considérés dans notre étude (0, 18–1,5), dans le réseau benthique en revanche les TMF sont souvent significativement > 1 (gamme de TMF = 0,33–6,0), ainsi que pour l'ensemble du jeu de données (gamme de TMF = 0,79–2,2), attestant du potentiel de bioamplification des PFAS en milieu estuarien.

Evidence for the Trophic Transfer of Perfluoroalkylated Substances in a Macrotidal Estuary

Gabriel Munoz¹, Marc Babut², Hilaire Drouineau³, Jérémy Lobry³, Jonathan Selleslagh⁴, Hélène Budzinski⁵, Pierre Labadie^{5,*}

¹: Bordeaux University, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, F-33400 Talence, France.

²: IRSTEA, UR MALY, F-69626 Villeurbanne cedex, France.

³: IRSTEA, UR EABX, F-33610 Cestas, France.

⁴: Bordeaux University, EPOC, UMR 5805, EA Research Group, F-33120 Arcachon, France.

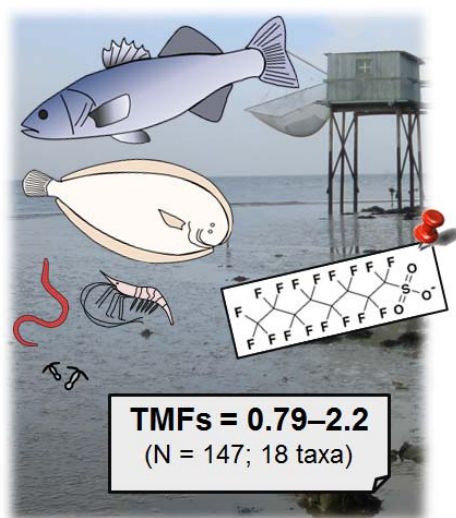
⁵: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group F-33400 Talence, France.

*Corresponding author. Contact: pierre.labadie@u-bordeaux.fr

To be submitted to

Environmental Science & Technology

Graphical Abstract



Abstract

The present survey examines the trophic dynamics of a large suite of perfluoroalkyl substances (PFASs, $n = 19$) in 147 biota samples (18 taxa) collected in a macrotidal estuary (Gironde, SW France). Total PFAS levels (Σ PFASs) were in the range 4.2–7.9 ng L⁻¹ in water, 0.93–1.6 ng g⁻¹ dry weight in sediments, and 0.66–45 ng g⁻¹ wet weight (whole-body) in biota. Benthic organisms had relatively high Σ PFASs compared to demersal organisms and displayed specific composition profiles with higher relative abundances of perfluorooctanoate (PFOA) and perfluorononanoate (PFNA). Trophic magnification factors (TMFs) were determined through the use of linear mixed effect models with censored responses, thereby considering the interspecific variability of $\delta^{15}\text{N}$ and PFAS levels (random effects) and allowing appropriate statistical treatment for data below detection limits (non-detects). While in the demersal food web TMFs were rather weak (0.18–1.5), TMFs were almost consistently > 1 in the benthic food web (TMF range: 0.33–6.0) as well as when considering all data pooled together (TMF range: 0.79–2.2), providing evidence for the biomagnification of several PFASs in estuarine environments. In the benthic food web, TMFs were found to decrease with increasing chain length for medium to long-chain perfluoroalkyl acids.

1. Introduction

Halogenated organic compounds encompass a whole host of molecules that have the potential to be persistent, bioaccumulative and toxic (PBT), the present cornerstones of chemical hazard evaluation [1]. Organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) fulfill such criteria and have been the focus of intense regulatory action and monitoring since the 1970s [2]. Poly and perfluoroalkyl substances (PFASs), in contrast, came under scrutiny more recently (late 1990s) when the occurrence of perfluoroalkyl carboxylates (PFCAs) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) across multiple environmental media was revealed [3, 4]. Since then, academic research on PFOS and related compounds has been extensive, and PFASs have been acknowledged as ubiquitous pollutants with potential for long range transport [5, 6]. This, together with growing concern over potential adverse effects, provided the grounds for the addition of PFOS to the Annex B of the Stockholm Convention on persistent organic pollutants (POPs) in 2009 [7].

In biota, PFASs are found predominantly in protein-rich compartments such as blood and liver, rather than in lipid-rich tissues, a somewhat unique feature amongst POPs [8–10]. In view of these specific characteristics, the bioaccumulation potential of anionic PFASs such as perfluoroalkyl sulfonates (PFSAs) and PFCAs cannot be inferred from the standard octanol-water partitioning coefficient (K_{ow}). Thus, field studies or experiments under controlled conditions are still warranted. In laboratory partitioning experiments, Martin et al. [8] determined bioconcentration factors (BCFs) for rainbow trout exposed to a suite of PFCAs and PFSAs, and concluded therefrom that their bioaccumulation potential was strongly related to perfluoroalkyl chain length and polar end group nature. Thereafter, in-situ measurement of bioaccumulation factors (BAFs = concentration in biota relative to that of the surrounding water) corroborated that BAFs for PFCAs and PFSAs were positively correlated to perfluoroalkyl chain length [11–13]. Concentrations in biota > 5000 times those in water (i.e., Log BAF > 3.7) have been reported for PFOS and long-chain PFCAs ($n_c \geq 9$) [11, 12, 14, 15], indicative of very bioaccumulative pollutants. Biota–sediment accumulation factors (BSAFs = biota wet weight concentration relative to the sediment dry weight concentration) have also been documented, and ingestion of sediment is postulated as a major entry route for PFASs into benthic food webs [12, 16–18].

In addition to direct exposure to dissolved PFASs, the bioaccumulation of PFASs may occur via dietary uptake, which may be evaluated through the calculation of biomagnification factors (BMFs) (predator-prey comparison), sometimes corrected for trophic level (BMF_{TL}) [19]. Exponential models have been used to describe the increase of contaminant concentrations through entire food webs; therefore, concentrations are usually Log-transformed prior to regression versus $\delta^{15}N$ or trophic level (TL), the antilog of the regression slope yielding the trophic magnification factor (TMF) [19, 20]. TMFs > 1 have been reported for PFOS and medium to long-chain PFCAs ($n_c \geq 8$), strongly suggesting biomagnification potential for these chemicals in aquatic ecosystems [17, 21–26]. However, given the wide range of TMF values observed across different food webs [17, 21–26], the biomagnification of PFASs remains difficult to predict. Houde et al. [27] have urged prudence in study designs, indicating an overt bias in BMF and TMF calculation when muscle tissue or liver or blood concentrations are

used for larger species, while smaller biota species are analyzed as whole individuals or pooled homogenates. Another potential source of confusion lies in the varying abilities of organisms to metabolize PFOS-precursors (e.g., FOSA) and PFCA-precursors (e.g., fluorotelomer unsaturated carboxylates). Hence, the biomagnification potential of PFOS and PFCAs may be inflated [11, 25]. Other common pitfalls that may affect the validity and reliability of TMFs have been extensively reviewed by Borgå et al. [19].

To date, PFAS trophodynamics have been essentially investigated in marine [22, 24, 25] or lake [21, 26, 28] food webs. In contrast, the biomagnification potential of PFASs in dynamic estuarine systems has seldom been documented [29]. The present study was conducted in the Gironde (South Western France), a macrotidal estuary characterized by its fairly permanent maximum turbidity zone [30, 31] that may play a pivotal role in the sequestration of micropollutants, possibly delaying their transfer to marine and coastal environments. The Gironde is of great ecological value: it is an important nursery ground for many marine fish species of the Bay of Biscay, a migratory corridor for several diadromous fish typical of Western Europe, and the last known natural breeding area of European sturgeon (*Acipenser sturio*) [32]. Water, sediment, and a large set of biota samples (N = 147; 18 taxa) were therefore collected in this estuary. In view of the presence of non-detect data and in an attempt to account for interspecific variability of PFAS and $\delta^{15}\text{N}$ levels, specific regression approaches based on linear mixed models accounting for censored responses were implemented [33]. To our knowledge, this is the first time a PFAS trophic magnification study of such scope and comprehensiveness has been conducted in an estuarine ecosystem.

2. Experimental

2.1. Chemicals and Standards

A full list of chemicals and solvents is provided in the Supporting Information (SI). Certified PFAS native compounds and isotope-labeled internal standards (ISs) were acquired from Wellington Laboratories (BCP Instruments, Irigny, France) and had chemical purities > 98 % and isotopic purities > 94 %. The native PFASs targeted included PFCAs and PFSA of various chain lengths, perfluorooctane sulfonamide (FOSA), N-alkylated sulfonamides (MeFOSA, EtFOSA) and N-alkylated sulfonamide acetic acids (MeFOSAA, EtFOSAA). Note that, in this paper, L-PFOS refers to the linear isomer of perfluorooctane sulfonate and Br-PFOS to the branched isomers (PFOS = L-PFOS + Br-PFOS). Details on analyte names, acronyms, structures and corresponding ISs are enclosed in the SI (Table S1).

2.2. Description of the study site

Located on the French Atlantic coast, the Gironde estuary (SW France) is one of the largest in Europe (80 km long, up to 10 km wide) (SI Fig.S1). One of the main features of the Gironde estuary is its almost permanent maximum turbidity zone [30, 31], stretching over several tens of kilometers. This highly turbid environment is poorly conducive to photosynthesis; hence, detritus rather than

phytoplankton is the base of the food web [32]. The Gironde estuary is subject to high seasonal fluctuations of physicochemical factors (flow rate, salinity, temperature, tide, turbidity) and anthropogenic pressures. However, it is associated with high ecological production and a noteworthy and iconic biodiversity [32, 34–36]. In the long run, synergistic effects of climatic change (i.e. temperature increase and salinization) and micropollutants [37–41] may however durably affect biodiversity.

2.3. Sample Collection and Preparation

A total of 147 biota samples were collected between May–November 2012 in the mesohaline zone of the Gironde estuary. Common seabass (*Dicentrarchus labrax*, $n = 9$), spotted seabass (*Dicentrarchus punctatus*, $n = 28$), grey mullet (*Liza ramada*, $n = 12$), meagre (*Argyrosomus regius*, $n = 12$), anchovy (*Engraulis encrasicolus*, $n = 6$), sprat (*Sprattus sprattus*, $n = 3$), common sole (*Solea solea*, $n = 31$) and flounder (*Platichthys flesus*, $n = 13$) samples were collected by bottom trawling or dragnet fishing [35]. In parallel, Copepods (*Copepoda*, *ind.*), mysids (*Mysidacea*, *ind.*), white shrimps (*Palaemon longirostris*), brown shrimps (*Crangon crangon*), gammarids (*Gammarus* spp.) and gobies (*Pomatoschistus* spp.) were collected with a cone-shaped WP-2 net (mesh: 200 μm). Other benthic invertebrates were collected at low tide along intertidal mudflats of the southern (S^t Christoly) and northern banks (Talmont-sur-Gironde, Mortagne) of the estuary (SI Fig.S1).

Fish samples were weighed and measured prior to dissection, freeze-drying (72 h) and grinding. Note that small fish and invertebrates were prepared as pooled whole-body homogenates, while muscle tissues were processed for larger fish (> 100 mm). Therefore, a correction factor was calculated and used to convert PFAS concentrations in fillets into whole-body (w-b) concentrations. It generally ranged between 2–3, consistent with previous observations [29] (detailed results and calculation procedure are given in the SI, Table S2).

Details regarding the collection and handling of water and sediment samples are provided in the SI.

2.4. PFAS Chemical Analyses

Analytes were quantified using the isotopic dilution method, ISs being gravimetrically added to the samples, procedural blanks and reference materials at the beginning of the extraction procedure. Briefly, water samples (0.5 L) were concentrated using solid phase extraction on Strata X-AW cartridges, while sediment samples (1 g) underwent a microwave extraction with MeOH prior to ENVI-Carb graphite clean-up [42]. Biota samples (~ 250 mg dry weight (dw)) were processed using a microwave extraction with ethanol followed by Strata X-AW/graphite clean-up [43].

Limits of detection (LODs) were determined as described elsewhere [42] and were in the range 0.003–0.3 ng L^{-1} , 0.001–0.1 ng g^{-1} dw and 0.002–0.05 ng g^{-1} wet weight (ww) for surface water, sediment and biota samples, respectively (SI Table S3). Due to the low expected concentration in sediments and biota and relatively high blank contamination of short-chain (C_4 – C_6) PFCAs (blank levels = 0.25–0.85 ng), the latter were measured only in water samples.

Recovery rates were controlled through replicate analyses of mineral water samples (fortified at 1 ng L⁻¹), reference sand samples (fortified at 1 ng g⁻¹ dw) and brown trout fillets from the Kerguelen archipelago (Southern Ocean) (fortified at 3 ng g⁻¹ ww), and ranged between 53–134 %, 56–86 % and 51–107 % for water, sediment and biota matrices, respectively [42, 43]. A spotted seabass sample (dorsal muscle) was used as an in-house control matrix; the relative standard deviation of PFAS concentrations determined in this matrix (n = 3) averaged 6 % (range: 1.8–18 %) (SI Table S4). Method trueness was controlled through the analysis of NIST SRM 1947 reference samples (n = 4) (Lake Michigan Fish Tissue) (SI Table S4). The concentrations determined for PFOS and PFCAs were in excellent agreement with previous reports [28, 44].

PFAS chemical analyses were performed with an Agilent 1200 LC system interfaced with an Agilent 6460 triple quadrupole mass spectrometer (Agilent Technologies, Massy, France). Operating details on chromatographic conditions as well as mass spectrometry acquisition parameters are provided elsewhere [42].

2.5. Stable Isotope Analyses

To determine isotopic compositions of biota samples ($\delta^{15}\text{N}$), freeze-dried biota samples were ground into fine and homogeneous powder with a micro ball mill (25 Hz) and lipids subsequently extracted by accelerated solvent extraction [45]. Samples were weighed (0.2 ± 0.1 mg) in tin capsules and stable isotope ratios determined using a Thermo Finnigan Delta V EA-IRMS (Elemental Analyzer – Isotope Ratio Mass Spectrometry) with a ConFlo IV interface. Carbon and nitrogen isotope compositions were expressed as per mil (‰) in the δ notation relative to Vienna PeeDee Belemnite (vPDB) and atmospheric N₂, respectively. Isotopic analyses were performed in triplicate for each biota sample and standard deviations remained in the range 0.03–0.23 ‰ for $\delta^{15}\text{N}$. Every 10–15 analyses, IAEA-N2 ($\delta^{15}\text{N} = 20.3$ ‰) and USG-24 ($\delta^{13}\text{C} = -16.1 \pm 0.2$ ‰) reference materials were run to control for analytical drift, and averaged 20.59 ± 0.07 ‰ (n = 15) and -15.82 ± 0.26 ‰ (n = 28), respectively. $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values of an in-house control mussel matrix averaged 13.57 ± 0.18 ‰ and -14.18 ± 0.17 ‰, respectively (multibatch replicate measurements, n = 9) (quality control chart provided in Fig.S2 of the SI).

2.6. Determination of Trophic Levels and TMFs

Trophic levels were calculated according to the formula for two-source food webs [46]: $\text{TL} = \lambda + [\delta^{15}\text{N}_{\text{consumer}} - \{\alpha \delta^{15}\text{N}_{\text{base1}} + (1 - \alpha) \delta^{15}\text{N}_{\text{base2}}\}] / \Delta_n$, where λ is the estimated trophic position of the organism at the base of the food web (for secondary producers, $\lambda = 2$), $\delta^{15}\text{N}_{\text{base1}}$ and $\delta^{15}\text{N}_{\text{base2}}$ are the mean $\delta^{15}\text{N}$ of the baseline organisms for the benthic and demersal food webs, respectively, and Δ_n is the mean trophic fractionation of $\delta^{15}\text{N}$ across two successive trophic levels ($\Delta_n = 3.4$ ‰, as per Post) [46]. α is a coefficient used to adjust the relative importance of each nitrogen food source for a given consumer, derived in our case from the known feeding ecology of fish from the Gironde estuary food web (see Table S5 of the SI) [47]. For all the fish taxa considered, it was deemed acceptable to consider that the benthic and intermediate pelagic sources were the major food sources, since the contribution of other sources to the diet (i.e., detritic or phytoplanktonic sources) remained below 15 % on average [47]. In the case of zooplankton, small pelagic fish (anchovy, sprat) and shrimps, α was

set at 0, while benthic invertebrates (ragworm, shore crab and gammarids) were assigned the value of $\alpha = 1$.

The R statistical software (R version 2.15.3, R Core Team, 2013) and Sigmaplot™ 11.0 (Systat Software) were used to conduct data analysis. Statistical significance was set at $p < 0.05$. In view of the presence of non-detect data, functions from the NADA (Non-detects And Data Analysis) and LMEC (Linear Mixed-Effects Models with Censored Responses) R-packages were used to perform regression analyses. Logarithm-transformed PFAS concentrations were plotted against trophic level, the TMF being subsequently obtained as 10^{slope} .

Two regression approaches were considered in parallel. The *cenken* function (NADA) imputes non-detects based on the distribution of observed data prior to determination of the Akritas-Theil-Sen (ATS) line (slope, intercept, and Kendall's τ nonparametric correlation coefficient). In an attempt to consider non-detect data as well as inter-species variability of $\delta^{15}\text{N}$ and PFAS levels (random effects), we used a linear mixed effect model with censored responses, implemented in R via *lme4* [33] (model used: $\text{Log Concentration} = \sim \text{TL} + (1|\text{Species})$, i.e. a standard linear regression between log concentration and trophic level, but including a random effect on species). The latter approach should also account for the TMF distortion due to differences in number of samples between taxa (e.g. $N_{\text{spotted seabass}} \gg N_{\text{copepods}}$) (see also **Table S7** of the SI). Scripts for the *cenken* and *lme4* procedures are provided in the SI. Note that compounds with more than 80 % censored observations were not considered in the determination of TMFs since tenuous statistics may be obtained above this threshold.

3. Results and discussion

3.1. Isotopic Compositions and Trophic Levels

The Gironde estuary is characterized by two intertwined food webs, a benthic food web mainly composed of flat fish (sole, flounder), endobenthic invertebrates (polychaetes, clams), and epibenthic crustaceans (shore crab, gammarids), and a benthic-pelagic food web dominated by top predators (seabass, meagre) that may feed on both intermediate pelagic (e.g., zooplankton, shrimps, small pelagic and juvenile fish) and benthic food sources [47]. Individual $\delta^{15}\text{N}$ values were in the range 5.1–15.4 ‰. Mean $\delta^{15}\text{N}$ values of the ichthyofauna were in the following order: spotted seabass ~ meagre ~ common seabass > sole > flounder > mullet ~ sprat ~ gobie > anchovy, in reasonable agreement with Pasquaud et al. [47,48]. Oysters and scrobicularidae displayed consistently low $\delta^{15}\text{N}$ (7.8 ± 1.1 and 8.5 ± 1.2 ‰, respectively) and were used as baseline organisms (TL = 2) for the determination of TLs of higher-level consumers (see also Section 2.6).

3.2. PFAS concentrations in Surface Water and Sediments

Among the 23 PFASs analyzed, 15 were detected in surface water samples ($n = 6$). ΣPFASs ranged between 4.2–7.9 ng L⁻¹, individual compounds generally remaining at sub ng L⁻¹ levels (SI **Table S6**).

PFOS prevailed over other PFASs (23 ± 3 % of Σ PFASs), followed by short-chain (C_5 – C_8) PFCAs (between 8–15 % each) and PFHxS (8 ± 1 %). In sediment samples ($n = 5$), 18/20 PFASs were detected. With an average Σ PFASs of 1.2 ± 0.3 ng g⁻¹ dw, levels in sediments remained in the same order of magnitude than those reported at French nationwide scale (mean Σ PFASs = 1.8 ng g⁻¹ dw) [42]. The highest level of PFAS in sediments was that of PFOS (0.38 ± 0.11 ng g⁻¹ dw), followed by C_8 – C_{12} PFCAs (0.077 ± 0.030 to 0.13 ± 0.037 ng g⁻¹ dw) (SI Table S6).

3.2. PFAS Levels and Composition Profiles in Biota

Overall detection frequencies and concentration ranges of PFASs in biota are reported in Table 1, and the mean Σ PFASs across taxa is illustrated in Fig.1 (see also Table S7 of the SI for concentration ranges of individual PFASs and Σ PFASs for each species).

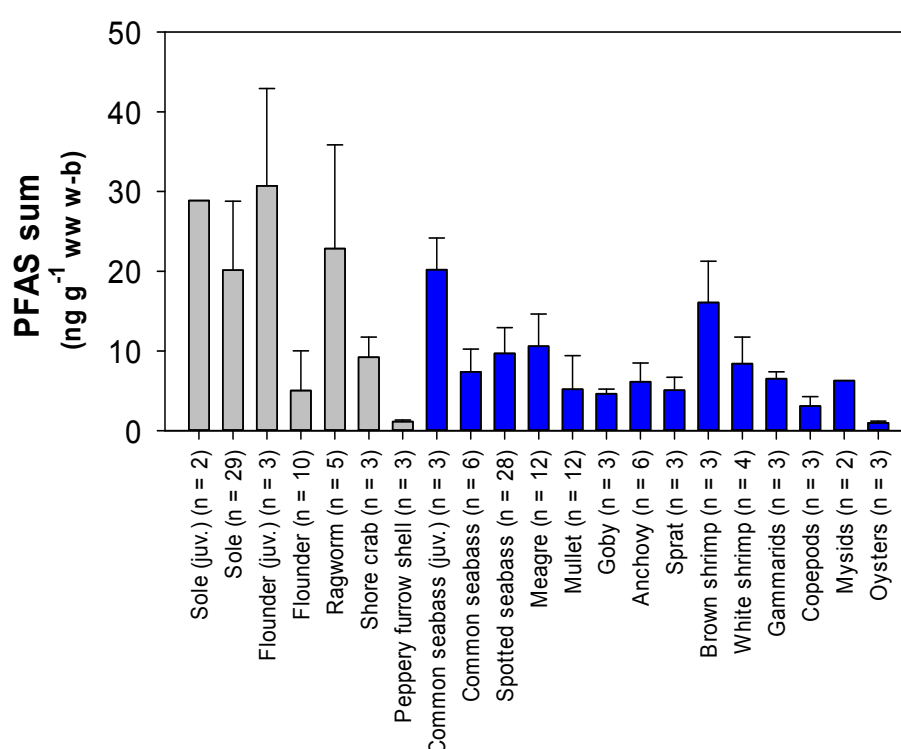


Fig.1. Mean total PFAS concentrations (Σ PFASs) in fish and invertebrates from the Gironde estuary (grey bars: benthic food web; blue bars: demersal food web). Concentrations are expressed in ng g⁻¹ wet weight (ww) whole-body (w-b) (j. = juveniles). Error bars correspond to standard deviation.

In the biota samples analyzed ($n = 147$), L-PFOS and FOSA displayed the highest detection frequencies (DF) (100 %), and C_9 – C_{13} PFCAs were almost systematically detected (DF = 86–95 %). Average Σ PFASs in fish were in the range 4.6–20.7 ng g⁻¹ ww w-b, a moderate burden compared to concentrations reported in some Canadian lakes [21, 28], but in the same order of magnitude than total concentrations in fish from Sarasota Bay and Mai Po Marshes [17, 23]. It should be mentioned that PFAS concentrations in juveniles of flounder (length = 25–95 mm; Σ PFASs range = 20–44 ng g⁻¹ ww w-b) and common seabass (length = 19–53 mm; Σ PFASs range = 16–23 ng g⁻¹ ww w-b) were significantly higher than those in larger specimens (length = 140–340 mm; median Σ PFASs = 3.7 and

6.4 ng g⁻¹ ww w-b for flounder and common seabass, respectively). This is concordant with Lescord et al. [28] who reported mean ΣPFASs between 1.5–4.3 times higher in juvenile Arctic char (*Salvelinus alpinus*) than in adult char at 4/6 Canadian lake sampling sites. A significant decreasing trend of ΣPFASs with increasing age was also observed in bottlenose dolphins from southeast US estuaries [49]. Higher PFAS concentrations in juveniles are possibly a consequence of growth dilution or changes in metabolic rates with increasing age. Another plausible explanation in our specific case lies in the different life traits displayed by juveniles of fish that remain confined to the estuarine area or adjacent coastal waters and are likely more subject to enhanced PFAS exposure than larger specimens that spend part of the year offshore. Median ΣPFAS levels in sole (20.4 ng g⁻¹ ww w-b) were nearly two-fold higher than those in pelagic fish (9.3, 9.6 and 10 ng g⁻¹ ww w-b for common seabass, spotted seabass and meagre, respectively). Relatively high PFAS levels were also found in the endobenthic polychaete *Nereis diversicolor* compared to other invertebrates, ΣPFASs reaching up to 45 ng g⁻¹ ww w-b. This concurs with previous observations by Nakata et al. [16] who also reported elevated ΣPFASs in lugworms *Arenicola marina* from the Ariake Sea food web (ΣPFASs ~ 80 ng g⁻¹ ww w-b), greatly exceeding those in bivalves or crabs. PFASs are relatively water soluble, which could promote direct exposure of biota. However, taken together, the above findings further suggest that the ingestion of sediments may play a critical role in PFAS accumulation for sediment-dwelling organisms. Low total PFAS concentrations were observed in oyster and peppery furrow shell, ΣPFASs oscillating between 0.66–1.2 and 0.89–1.3 ng g⁻¹ ww w-b, respectively, in excellent agreement with So et al. [50]. The low bioaccumulation potential of PFASs in filter-feeders may be a result of overall low affinity binding (reversible uptake), while elimination of the higher affinity binding PFAS fraction might be mediated via multixenobiotic resistance transporter proteins [51].

L-PFOS was generally the dominant PFAS in biota, albeit with some species-specific characteristics (SI Fig.S3). In pelagic organisms, L-PFOS represented 49 ± 11 % of ΣPFASs on average, followed by FOSA and PFDA (18 ± 14 % and 6.7 ± 4 % of ΣPFASs, respectively), while long-chain PFCAs (C₁₁–C₁₄) were less prominent (0.5–3.7 % of ΣPFASs each, on average), in excellent agreement with previous reports [21, 23, 24]. PFOS levels were moderate, fillet concentrations in species of fishery interest remaining below the current environmental quality standard set by the European Union (EQS_{biota} = 9.1 µg kg⁻¹ ww) (Directive 2013/39/EU), except for one exceedance (SI Fig.S4). In gammarids, PFOA was the second most abundant congener after L-PFOS (15 ± 15 % Vs 32 ± 8 % of ΣPFASs), akin to patterns reported for *Gammarus wilkitzkii* from the Barents Sea [52]. The relative abundance of FOSA invariably exceeded that of L-PFOS in oysters (74 ± 7 % Vs 12 ± 7% of ΣPFASs). This distinctive pattern is consistent with profiles observed in shellfish from the Seine and Loire estuary (France) [53], green-lipped mussels *Perna viridis* from the Chinese coast [50], and mussel standard reference material SRM 2974a [44], and could be related to the lower metabolic capacity of filter-feeding bivalves as regards the biotransformation of PFOS-precursors such as FOSA.

In order to investigate the influence of life traits (e.g., benthic Vs demersal) on PFAS accumulation profiles, it has been previously suggested to examine PFOA/PFOS concentration ratios [16]. In our case, this approach could not be implemented as such due to the lower detection frequency of PFOA

(63 %) relative to L-PFOS (100 %). Instead, we attempted to consider PFNA and FOSA Vs L-PFOS, compounds of low censoring percentages (0–9 %). Average PFNA/L-PFOS concentration ratios in flatfish were 1–2 orders of magnitude higher than those of pelagic fish; likewise, benthic invertebrates showed relatively high PFNA/L-PFOS ratios (2.0 ± 1.0 and 0.58 ± 0.28 for ragworm and shore crab, respectively) compared to other invertebrates (**Fig.2**). This is consistent with Nakata et al. [16] who observed higher PFOA/PFOS ratios in tidal flat organisms than those from shallow water. Another common strand between ragworm and shore crab was the prevalence of other medium-chain PFCAs: these species were the only ones with concentrations of PFHpA above $1 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww w-b}$, and had the highest PFOA/L-PFOS concentration ratios (1.4 ± 0.6 and 0.94 ± 0.08 for ragworm and shore crab, respectively). In most organisms, FOSA/L-PFOS ratios were < 1 (**Fig.2**), concurring with previous observations by Martin et al. [21] in a Lake Ontario food web. Average FOSA/L-PFOS concentration ratios spanned nearly 2 orders of magnitude, with maximum values for oysters (7.4 ± 3.0) and demersal fish (0.43–6.9) and minimum values for benthic fish and crabs (0.080–0.15) (**Fig.2**).

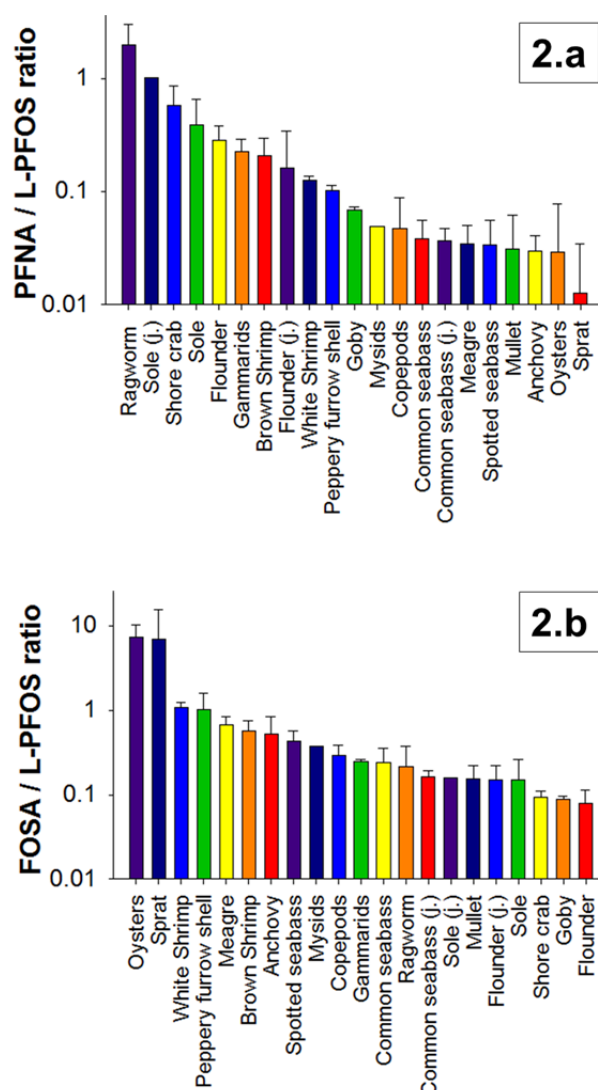


Fig.2. Evolution of the PFNA / L-PFOS (**2.a**) and FOSA / L-PFOS (**2.b**) concentration ratios across biota species collected in the Gironde estuary (j. = juveniles).

3.3. Bioaccumulation

Regardless of taxa, average BAFs were consistently high for FOSA (7430–151200), followed by PFUnDA (1030–54400), L-PFOS (122–7490) and PFDA (89–7370), while those of shorter-chain compounds were sensibly lower (e.g., 9.5–697 and 20–1250 for PFHxS and PFOA, respectively) (SI **Table S8**). This again underscores the importance of perfluoroalkyl chain length and polar end group nature on PFAS bioaccumulation. For C₈–C₁₁ PFCAs (i.e. PFCAs bearing 7–10 perfluoroalkyl carbon atoms), Log BAF evolved in a linearly fashion with perfluoroalkyl chain length, each additional –CF₂ moiety contributing to an increase of 0.59 ± 0.10 log units (slope range for the different taxa considered: 0.45–0.77), in reasonable agreement with previous reports [11–13].

With the notable exception of scrobicularidae, BSAFs did not follow the linear chain-length dependency in the benthic food web. Higher values were actually observed for medium-chain PFCAs such as PFNA and PFDA than for C₁₁–C₁₄ PFCAs, or for PFHxS than for PFOS (SI **Table S9**). For instance, BSAFs in *Nereis diversicolor* were consistently high for PFNA (BSAF = 61 ± 15) and increased linearly from PFHpA to PFNA (+ 21 for each additional –CF₂), while those of long-chain PFCAs (C₁₁–C₁₄) were in the narrow range 1.2–5.5 on average. Similar trends were observed in a bioaccumulation experiment under controlled laboratory conditions, the BSAFs of the oligochaete *Lumbriculus variegatus* being significantly higher for C₈–C₁₀ PFCAs than for C₁₁–C₁₂ PFCAs, verified in organisms exposed to either spiked or non-spiked sediments [54]. As discussed in Higgins et al., the relatively high bioaccumulation of PFNA in worms might be a consequence of a lower elimination rate constant of this compound [54]. The distinctive BSAF patterns of Scrobicularidae may be related to different exposition pathways (deposit-feeding) than ragworms that can alternate between predation, deposit-feeding and filter-feeding [55].

3.4. Food Web Biomagnification

Predator-prey biomagnification factors (BMFs) were calculated by dividing the pollutant concentration in the predator by the mean of that of its prey. Mean BMFs were generally > 1 for L-PFOS (**Fig.3**), FOSA, and long-chain PFCAs, suggesting biomagnification (see also **Table S10** of the SI). Likewise, BMF corrected for trophic level ($BMF_{TL} = C_{predator}/C_{prey} * TL_{prey}/TL_{predator}$) were calculated and are provided in the SI (**Table S11**).

Trophic magnification factors (TMFs) could be more reliable than BMFs since the concentration of contaminants is examined across food webs through a continuous x-variable such as $\delta^{15}N$ or TL. However, inconsistent results may still be obtained if study design and data treatment are not appropriately addressed [19]. These include, for instance, the choice of the organism for the baseline of the food web, seasonal variations in contaminant levels or $\delta^{15}N$ (especially for lower TLs), analytical considerations such as matrix effects, and data analysis such as the importance of the statistical treatment of non-detects (data < LOD).

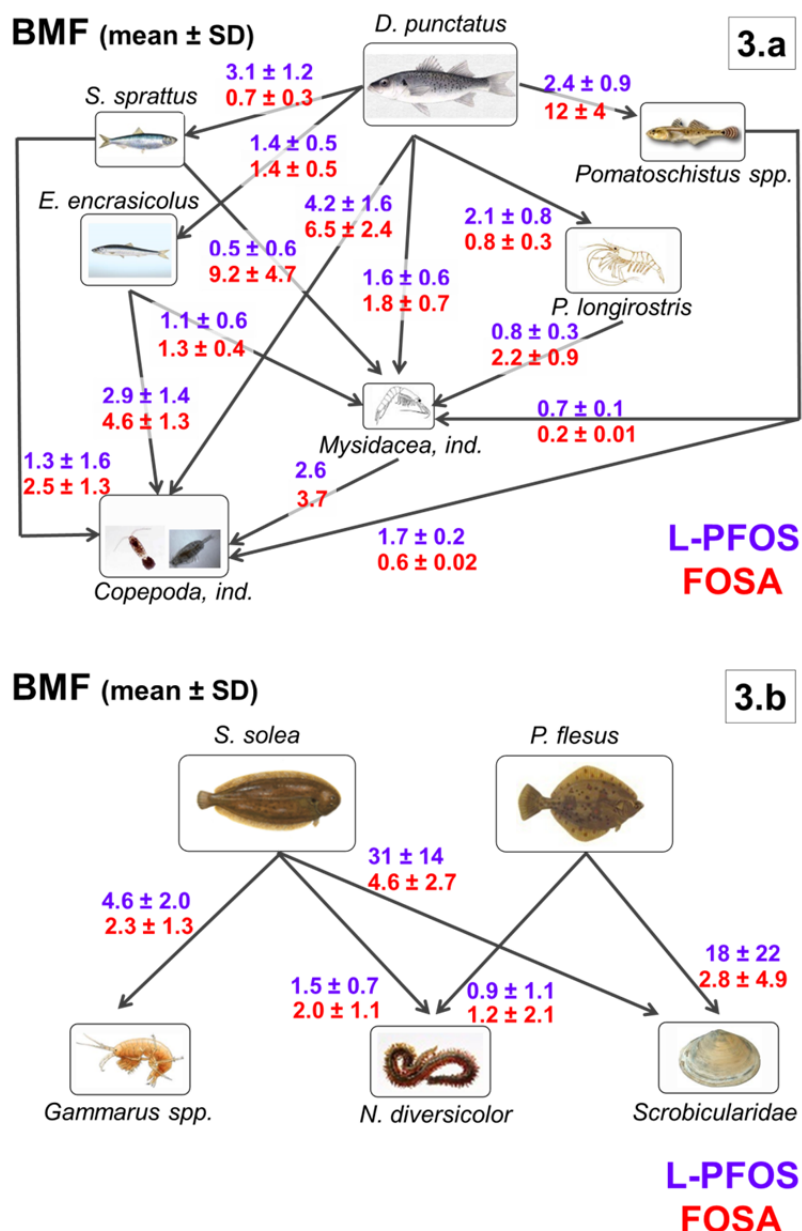


Fig.3. Illustration of the biomagnification factors (BMFs) (mean \pm standard deviation) of L-PFOS (blue font) and FOSA (red font) in a demersal (**3.a**) (not shown: meagre *A. regius*, common seabass *D. labrax*) and benthic (**3.b**) Gironde estuary food web.

In the present study, TLs were determined based on the formula for two-source food webs, the coefficients for each baseline $\delta^{15}\text{N}$ being adjusted according to relative percentage diet compositions in the case of higher-order consumers (see **Section 2.6**). In a companion paper [56], it was documented that PFAS levels and profiles remained relatively stable at the water-year scale in water, sediment and biota; therefore, the fact that sampling was spread over a five-month period should not have excessively affected TMFs. Differing matrix effects between samples may possibly lead to inaccurate quantitation and hence bias the determination of TMF. The use of adequate ISs (added prior to extraction) can to some extent compensate for variable recovery and matrix effects between

samples. In our case, moderate matrix effects were obtained [43] by combining a relatively small sample size (250 mg), extensive purification, and isotopic dilution (see **Section 2**).

It has been also suggested that the substitution of non-detects by a single arbitrary value (e.g., $0.5 \times \text{LOD}$ or $\text{DF} \times \text{LOD}$), although a commonly resorted-to practice, has no theoretical basis and may lead to poor correlation estimates [57]. To circumvent this, more statistically robust methods have been developed, wherein a lognormal distribution is usually fitted to the data set prior to the imputation of unknown observations [57]. In the case of PFUnDA in the intermediate demersal food web, for instance, relatively high TMFs were generated when using substitution by $0.5 \times \text{LOD}$, or $\text{DF} \times \text{LOD}$ ($p < 0.0001$; $R^2 = 0.23\text{--}0.24$; $\text{TMF} = 3.2\text{--}3.7$) (**Fig.4**), while an alternative technique such as the Akritas-Theil-Shen estimator suggested a non-significant relationship ($p = 0.08$; Kendall's $\tau = 0.13$; slope = 0.15 ; $\text{TMF} = 1.4$). The conclusions were similar to that of *cenken* when applying a linear mixed effect model with censored responses, the regression slope returned by *lme4* being non-significantly different from 0 ($0.86 \leq \text{TMF} \leq 1.01$) (**Fig.4**). This again shows that the use of substitution, even at low censoring percentages ($< 12\%$ non-detects for PFUnDA in the intermediate demersal food web), leads to such a distortion of TMFs that conflicting conclusions can be drawn.

The regressions between TL and the logarithm of PFAS concentrations (wet weight whole-body basis) using *lme4* yielded TMFs in the range $0.18\text{--}1.5$ and $0.33\text{--}6.0$ for the demersal and benthic food webs, respectively (**Table 1**). Note that analogous results were produced with *cenken* (SI **Table S12**). TMFs for all taxa combined ($N = 147$) are also provided (**Table 1**) and revealed significant biomagnification for $\text{C}_8\text{--}\text{C}_{12}$ PFCAs, PFHxS, PFOS and FOSA. In the demersal food web, TMFs were significantly > 1 for PFDoDA, PFHxS, Br-PFOS and FOSA (TMF range: $1.2\text{--}1.5$), while those of other PFCAs were in the range $0.88\text{--}1.2$ and that of L-PFOS significantly < 1 ($\text{TMF} = 0.94$). These findings differ from pelagic food webs from the Arctic (e.g., $\text{TMF}_{\text{PFOS}} = 3.1\text{--}11$; $\text{TMF}_{\text{PFUnDA}} = 4.7\text{--}13.7$) [22, 24, 25]. The latter are typically longer food webs, dominated by marine mammals and spanning over 4 TLs (Vs 2.7 TLs in the present study).

In contrast to air-breathing organisms, fish may be endowed with more efficient PFAS elimination via gill excretion [24], hence the lower TMFs reported in the present study and in those of Loi et al. [17] ($\text{TMF}_{\text{PFOS}} = 1.3$; $\text{TMF}_{\text{PFUnDA}} = 1.7$) or Lescord et al. [28] ($\text{TMFs} \leq 1$) where fish and not mammals were the apex predators of the food web. In addition to food web structure, differences in TMFs among studies may be related to differences in study design and calculation methodology [19].

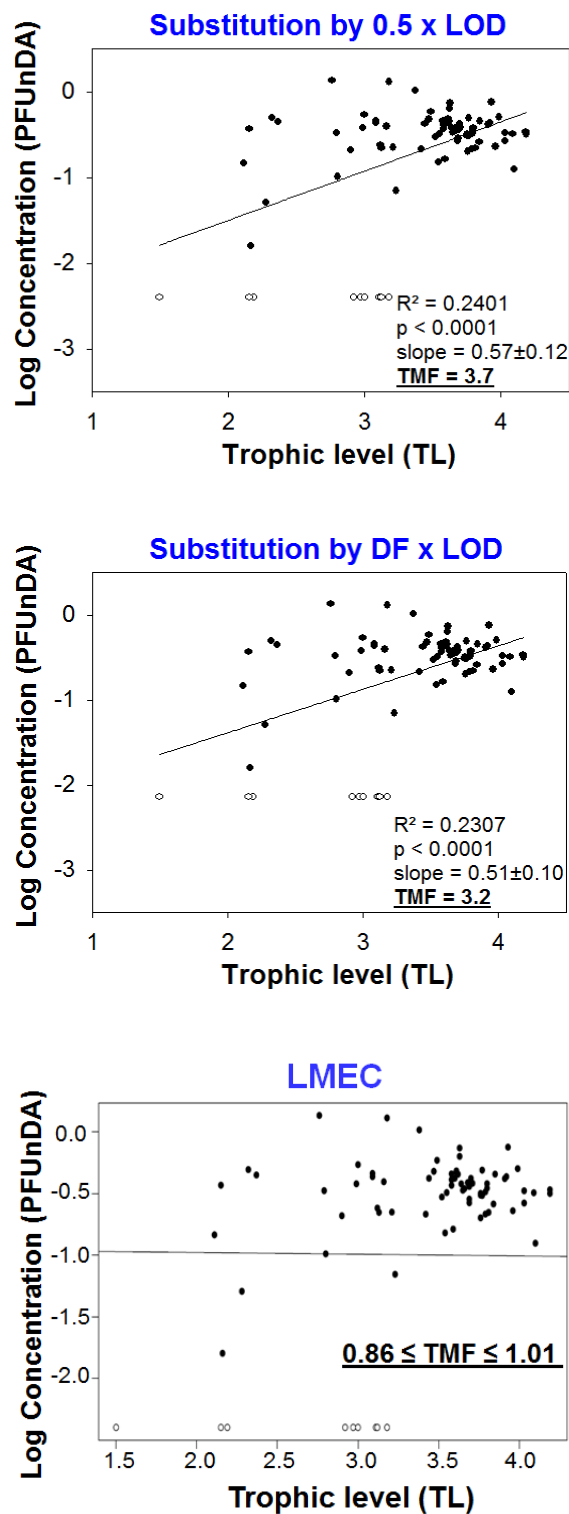


Fig.4. Illustration of Log (C_{PFUnDA}) (concentrations expressed in ng g^{-1} ww whole body) Vs trophic level (TL) regression lines and the resulting TMFs in the case of the intermediate demersal food web, using traditional substitution techniques (substitution of non-detects by either 0.5 x LOD or DF x LOD) (DF: detection frequency) and an alternative approach based on linear mixed effect models with censored responses (LMEC).

Table 1. Overall detection frequency (DF, %) and concentration range (min–max) (ng g⁻¹ wet weight whole-body (ww w-b)) of PFASs in biota from the Gironde estuary food web (N = 147) and summary of trophic magnification factors (TMFs). TMFs were determined with a linear mixed effect model with censored responses (*lme* function of the LMEC R-package) (TMF estimate, TMF 95 % confidence interval, and Akaike information criterion AIC). TMFs significantly different from 1 are indicated in bold.

	Detection Frequency (%)	Concentration range (min–max) (ng g ⁻¹ ww w-b)	TMF _{BENTHIC} (n = 67) Estimate [95%] (AIC)	TMF _{DEMERSAL} (n = 80) Estimate [95%] (AIC)	TMF _{POOLED} (n = 147) Estimate [95%] (AIC)
PFHpA	18	ND*–1.7	NC**	NC	NC
PFOA	63	ND–8.2	6.0 [5.0;7.3] (120)	1.0 [0.91;1.1] (101)	2.0 [1.9;2.1] (219)
PFNA	91	ND–12	3.1 [2.7;3.5] (116)	0.88 [0.81;0.97] (122)	1.5 [1.4;1.6] (226)
PFDA	95	ND–4.1	1.7 [1.6;1.9] (100)	0.96 [0.91;1.0] (74)	1.2 [1.1;1.2] (160)
PFUnDA	90	ND–4.0	1.8 [1.6;2.0] (139)	0.93 [0.86;1.0] (110)	1.1 [1.0;1.2] (248)
PFDoDA	93	ND–2.8	1.1 [0.94;1.2] (150)	1.3 [1.1;1.4] (154)	1.2 [1.2;1.3] (284)
PFTTrDA	86	ND–2.4	0.66 [0.49;0.87] (196)	0.96 [0.89;1.0] (120)	1.1 [0.99;1.2] (313)
PFTeDA	59	ND–0.35	0.33 [0.20;0.54] (221)	1.2 [1.0;1.5] (246)	0.79 [0.68;0.91] (445)
PFHxS	62	ND–1.3	4.3 [3.5;5.1] (116)	1.5 [1.2;1.9] (196)	2.2 [1.9;2.4] (289)
PFHpS	31	ND–1.1	NA***	NA	NA
Br-PFOS	95	ND–6.6	3.9 [3.3;4.6] (156)	1.5 [1.3;1.6] (124)	2.2 [2.0;2.3] (269)
L-PFOS	100	0.085–22	2.5 [2.3;2.6] (81)	0.94 [0.92;0.97] (33)	1.5 [1.5;1.6] (110)
PFDS	21	ND–0.077	NA	NA	NA
MeFOSAA	50	ND–0.58	NA	0.18 [0.08;0.42] (287)	0.87 [0.58;1.3] (507)
EtFOSAA	30	ND–0.43	NA	NA	NA
FOSA	100	0.057–5.4	2.3 [2.2;2.4] (237)	1.2 [1.20;1.25] (8)	1.9 [1.9;2.0] (107)
MeFOSA	1	ND–0.080	NC	NC	NC
ΣPFASs	-	0.66–45	-	-	-

*ND: not detected (< LOD). **NC: not calculated (censoring percentage > 80 %). ***NA: not available.

In the benthic food web, TMFs were > 1 for nearly all the compounds considered. Another salient feature of the benthic food web was the particularly high TMFs of PFOA and PFNA (6.0 and 3.1, respectively). In fact, TMFs computed for benthic taxa followed an exponential decrease with increasing perfluoroalkyl chain length for C₈–C₁₄ PFCAs (SI **Fig.S5**); TMFs were significantly < 1 in the benthic food web for PFTTrDA and PFTeDA, suggesting biodilution (**Table 1**). Likewise, the linear isomer of PFOS (TMF = 2.5) was less readily biomagnified than PFHxS or Br-PFOS (TMF = 3.9–4.3).

In summary, higher levels of PFASs were generally found in benthic-dwelling biota, with differing bioaccumulation profiles compared to pelagic biota. In the benthic food web, trophic magnification was more pronounced for medium-chain than for long-chain PFASs, while no particular trend emerged in the demersal food web. This study stresses once again that the validity of TMFs hinges on appropriate

study design and data treatment. To endorse conclusions based on laboratory- or field-derived measurements, contaminant concentrations should be standardized across the species studied (e.g., whole body burden on a wet weight basis). Particular care should also be given to seasonal variations in levels of contaminants and $\delta^{15}\text{N}$, analytical artifacts, and statistical processing of non-detect data. In that respect, substitution approaches of non-detects (e.g., $0.5 \times \text{LOD}$) should be avoided. Other factors not considered in the present study (fish size, salinity gradient) could also possibly influence the bioaccumulation and biomagnification of PFASs at land/sea interfaces [58].

Acknowledgments

The authors are thankful to Virginie Bocquet, Emmanuel Geneste, Karyn LeMenach and Patrick Pardon for their contribution to this study. Excellent assistance in field work (zooplankton and nekton harvesting) was provided by Nathalie Tapie. This study has been carried out under the framework of the PFC-Gironde CNRS project (EC2CO-Ecodyn INSU) and with financial support from the French National Research Agency (ANR), in the frame of the 'Investments for the future' Program, within the Cluster of Excellence COTE (ANR-10-LABX-45). IdEx Bordeaux (ANR-10-IDEX-03-02) provided the PhD grant allocated to G. Munoz. The authors also acknowledge funding from ORQUE SUDOE (SOE3/P2/F591), as well as the Aquitaine Regional Council and the European Union (CPER A2E project). Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund (FEDER).

References

- [1] Gobas, F.A.P.C., de Wolf, W., Burkhard, L.P., Verbruggen, E., Plotzke, K., **2009**. Revisiting bioaccumulation criteria for POPs and PBT assessments. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 5, 624–636.
- [2] Muir, D.C.G, Howard, P.H., **2006**. Are there other persistent organic pollutants? A challenge for environmental chemists. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7157–7166.
- [3] Moody, C.A., Field, J.A., **1999**. Determination of perfluorocarboxylates in groundwater impacted by fire-fighting activity. *Environ. Sci. Technol.* 33, 2800–2806.
- [4] Giesy, J.P., Kannan, K., **2001**. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environ. Sci. Technol.* 35, 1339–1342.
- [5] Ahrens, L., **2011**. Polyfluoroalkyl compounds in the aquatic environment: a review of their occurrence and fate. *J. Environ. Monit.* 13, 20–31.
- [6] González-Gaya, B., Dachs, J., Roscales, J.L., Caballero, G., Jiménez, B., **2014**. Perfluoroalkylated Substances in the Global Tropical and Subtropical Surface Oceans. *Environ. Sci. Technol.* 48, 13076–13084.
- [7] <http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/ListingofPOPs/tabid/2509/Default.aspx>, accessed 2015/09/13.
- [8] Martin, J.W., Mabury, S.A., Solomon, K., Muir, D.C.G., **2003**. Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 196–204.

- [9] Olivero-Verbel, J., Tao, L., Johnson-Restrepo, B., Guette-Fernández, J., Baldiris-Avila, R., O-byrne-Hoyos, I., Kannan, K., **2006**. Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in biological samples from the north coast of Colombia. *Environ. Pollut.* 142, 367–372.
- [10] Conder, J.M., Hoke, R.A., de Wolf, W., Russell, M.H., Buck, R.C., **2008**. Are PFCA's bioaccumulative? A critical review and comparison with regulatory criteria and persistent lipophilic compounds. *Environ. Sci. Technol.* 42, 995–1003.
- [11] Kwadijk, C.J.A.F., Korytár, P., Koelmans, A.A., **2010**. Distribution of perfluorinated compounds in aquatic systems in The Netherlands. *Environ. Sci. Technol.* 44, 3746–3751.
- [12] Labadie, P., Chevreuil, M., **2011**. Partitioning behaviour of perfluorinated alkyl contaminants between water, sediment and fish in the Orge River (nearby Paris, France). *Environ. Pollut.* 159, 391–397.
- [13] Ahrens, L., Norström, K., Viktor, T., Cousins, A.P., Josefsson, S., **2015**. Stockholm Arlanda Airport as a source of per- and polyfluoroalkyl substances to water, sediment and fish. *Chemosphere* 129, 33–38.
- [14] Hong, S., Khim, J.S., Wang, T., Naile, J.E., Park, J., Kwon, B.O., Song, S.J., Ryu, J., Codling, G., Jones, P.D., Lu, Y., Giesy, J.P., **2015**. Bioaccumulation characteristics of perfluoroalkyl acids (PFAAs) in coastal organisms from the west coast of South Korea. *Chemosphere* 129, 157–163.
- [15] REACH Annex XIII on Criteria for the identification of persistent, bioaccumulative and toxic substances, and very persistent and very bioaccumulative substances (<http://www.reachonline.eu/REACH/EN/REACH_EN/articleXIII.html>, retrieved 2015/06/18).
- [16] Nakata, H., Kannan, K., Nasu, T., Cho, H.S., Sinclair, E., Takemura, A., **2006**. Perfluorinated contaminants in sediments and aquatic organisms collected from shallow water and tidal flat areas of the Ariake Sea, Japan: environmental fate of perfluorooctane sulfonate in aquatic ecosystems. *Environ. Sci. Technol.* 40, 4916–4921.
- [17] Loi, E.I.H., Yeung, L.W.Y., Taniyasu, S., Lam, P.K.S., Kannan, K., Yamashita, N., **2011**. Trophic magnification of poly- and perfluorinated compounds in a subtropical food web. *Environ. Sci. Technol.* 45, 5506–5513.
- [18] Bertin, D., Ferrari, B.J.D., Labadie, P., Sapin, A., Garric, J., Budzinski, H., Houde, M., Babut, M., **2014**. Bioaccumulation of perfluoroalkyl compounds in midge (*Chironomus riparius*) larvae exposed to sediment. *Environ. Pollut.* 189, 27–34.
- [19] Borgå, K., Kidd, K.A., Muir, D.C.G., Olof, B., Conder, J.M., Gobas, F.A.P.C., Kucklick, J., Malm, O., Powell, D.E., **2011**. Trophic magnification factors: considerations of ecology, ecosystems, and study design. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 8, 64–84.
- [20] Jardine, T.D., Kidd, K.A., Fisk, A.T., **2006**. Applications, considerations, and sources of uncertainty when using stable isotope analysis in ecotoxicology. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7501–7511.
- [21] Martin, J.W., Whittle, D.M., Muir, D.C.G., Mabury, S.A., **2004**. Perfluoroalkyl contaminants in a food web from Lake Ontario. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5379–5385.
- [22] Tomy, G.T., Budakowski, W., Halldorson, T., Helm, P.A., Stern, G.A., Friesen, K., Pepper, K., Tittlemier, S.A., Fisk A.T., **2004**. Fluorinated organic compounds in an eastern arctic marine food web. *Environ. Sci. Technol.* 38, 6475–6481.
- [23] Houde, M., Bujas, T.D., Small, J., Fair, P., Bossart, G.D., Solomon, K., Muir, D.C.G., **2006**. Biomagnification of perfluoroalkyl compounds in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) food web. *Environ. Sci. Technol.* 40, 4138–4144.
- [24] Kelly, B.C., Ikonomou, Blair, J.D., Surridge, B., Hoover, D., Grace, R., Gobas, F.A.P.C., **2009**. Perfluoroalkyl Contaminants in an Arctic Marine Food Web: Trophic Magnification and Wildlife Exposure. *Environ. Sci. Technol.* 43, 4037–4043.
- [25] Tomy, G.T., Pleskach, K., Ferguson, S.H., Hare, J., Stern, G., Macinnis, G., Marvin, C.H., Loseto, L., **2009**. Trophodynamics of some PFCs and BFRs in a western Canadian arctic marine food web. *Environ. Sci. Technol.* 43, 4076–4081.

- [26] Xu, J., Guo, C.S., Zhang, Y., Meng, W., **2014**. Bioaccumulation and trophic transfer of perfluorinated compounds in a eutrophic freshwater food web. *Environ. Pollut.* 184, 254–261.
- [27] Houde, M., De Silva, A.O., Muir, D.C.G., Letcher, R.J., **2011**. Monitoring of perfluorinated compounds in aquatic biota: an updated review. *Environ. Sci. Technol.* 45, 7962–7973.
- [28] Lescord, G.L., Kidd, K.A., De Silva, A.O., Williamson, M., Spencer, C., Wang, X., Muir, D.C.G., **2015**. Perfluorinated and polyfluorinated compounds in lake food webs from the Canadian high arctic. *Environ. Sci. Technol.* 49, 2694–2702.
- [29] de Vos, M.G., Huijbregts, M.A.J., van den Heuvel-Greve, M.J., Vethaak, A.D., Van de Vijver, K.I., Leonards, P.E.G., van Leeuwen, S.P.J., de Voogt, P., Hendriks, A.J., **2008**. Accumulation of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in the food chain of the Western Scheldt estuary: Comparing field measurements with kinetic modeling. *Chemosphere* 70, 1766–1773.
- [30] Allen, G.P., Salomon, J.C., Bassoullet, P., Du Penhoat, Y., De Grandpré, C., **1980**. Effects of tides on mixing and suspended sediment transport in macrotidal estuaries. *Sedim. Geol.* 26, 69–90.
- [31] Sottolichio, A., Castaing, P., **1999**. A synthesis on seasonal dynamics of highly-concentrated structures in the Gironde estuary. *C.R. Acad. Sci. Sér. II Fasc.A-Sci. Terre Planètes* 329, 795–800.
- [32] Lobry, J., David, V., Pasquaud, S., Lepage, M., Sautour, B., Rochard, E., **2008**. Diversity and stability of an estuarine trophic network. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 35, 13–25.
- [33] Vaida, F., Liu, L., **2009**. Fast implementation for normal mixed effects models with censored response. *J. Comput. Graph. Stat.* 18, 797–817.
- [34] Lobry, J., Mourand, L., Rochard, E., Elie, P., **2003**. Structure of the Gironde estuarine fish assemblages: a comparison of European estuaries perspective. *Aquatic Living Res.* 16, 47–58.
- [35] David, V., Sautour, B., Chardy, P., Leconte, M., **2005**. Long-term changes of the zooplankton variability in a turbid environment: the Gironde estuary (France). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 64, 171–184.
- [36] Selleslagh, J., Lobry, J., N'Zigou, A.R., Bachelet, G., Blanchet, H., Chaalali, A., Sautour, B., Boët, P., **2012**. Seasonal succession of estuarine fish, shrimps, macrozoobenthos and plankton: Physico-chemical and trophic influence. The Gironde estuary as a case study. *Est. Coast. Shelf Sci.* 112, 243–254.
- [37] Budzinski, H., Jones, I., Bellocq, J., Piérard, C., Garrigues, P., **1997**. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Mar. Chem.* 58, 85–97.
- [38] Baudrimont, M., Schäfer, J., Marie, V., Maury-Brachet, R., Bossy, C., Boudou, A., Blanc, G., **2005**. Geochemical survey and metal bioaccumulation of three bivalve species (*Crassostrea gigas*, *Cerastoderma edule* and *Ruditapes philippinarum*) in the Nord Médoc salt marshes (Gironde estuary, France). *Sci. Total Environ.* 337, 265–280.
- [39] Tapie, N., Le Menach, K., Pasquaud, S., Elie, P., Devier, M.H., Budzinski, H., **2011**. PBDE and PCB contamination of eels from the Gironde estuary: From glass eels to silver eels. *Chemosphere* 83, 175–185.
- [40] Chaalali A., Chevillot X., Beaugrand G., David V., Luczak C., Boet P., Sottolichio A., Sautour B., **2013**. Changes in the zooplankton community distribution in the Gironde estuary: A marinisation consequence? *Est. Coast. Shelf Sci.* 134, 150–161.
- [41] Bodin, N., Tapie, N., Le Ménach, K., Chassot, E., Elie, P., Rochard, E., Budzinski, H., **2014**. PCB contamination in fish community from the Gironde Estuary (France): Blast from the past. *Chemosphere* 98, 66–72.
- [41] de Vos, M.G., Huijbregts, M.A.J., van den Heuvel-Greve, M.J., Vethaak, A.D., Van de Vijver, K.I., Leonards, P.E.G., van Leeuwen, S.P.J., de Voogt, P., Hendriks, A.J., **2008**. Accumulation of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in the food chain of the Western Scheldt estuary: Comparing field measurements with kinetic modeling. *Chemosphere* 70, 1766–1773.
- [42] Munoz, G., Giraudel, J.L., Botta, F., Lestremau, F., Dévier, M.H., Budzinski, H., Labadie, P., **2015**. Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: a French nationwide survey. *Sci. Total Environ.* 517, 48–56.
- [43] Munoz, G., Simonnet-Laprade, C., Pardon, P., Budzinski, H., Labadie, P. Analysis of poly and perfluorinated compounds in fish matrices: optimization of a microwave assisted extraction method. Submitted to *J. Chromatogr. A*.

- [44] Reiner, J.L., O'Connell, S.G., Butt, C.M., Mabury, S.A., Small, J.M., De Silva, A.O., Muir, D.C.G., Delinsky, A.D., Strynar, M.J., Lindstrom, A.B., Reagen, W.K., Malinsky, M., Schäfer, S., Kwadijk, C.J.A.F., Schantz, M.M., Keller, J.M., **2012**. Determination of perfluoroalkyl acid concentrations in biological standard reference materials. *Anal. Bioanal. Chem.* 404, 2683–2692.
- [45] Bodin, N., Budzinski, H., Le Menach, K., Tapie, N., **2009**. ASE extraction method for simultaneous carbon and nitrogen stable isotope analysis in soft tissues of aquatic organisms. *Anal. Chim. Acta* 643, 54–60.
- [46] Post, D.M., **2002**. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* 83, 703–718.
- [47] Pasquaud, S., Pillet, M., David, V., Sautour, B., Elie, P., **2010**. Determination of fish trophic levels in an estuarine system. *Est. Coast. Shelf Sci.* 86, 237–246.
- [48] Pasquaud, S., Elie, P., Jeantet, C., Billy, I., Martinez, P., Girardin, M., **2008**. A preliminary investigation of the fish food web in the Gironde estuary, France, using dietary and stable isotope analyses. *Est. Coastal Shelf Sci.* 78, 267–279.
- [49] Fair, P.A., Houde, M., Hulsey, T.C., Bossart, G.D., Adams, J., Balthis, L., Muir, D.C.G., **2012**. Assessment of perfluorinated compounds (PFCs) in plasma of bottlenose dolphins from two southeast US estuarine areas: relationship with age, sex and geographic locations. *Mar. Pollut. Bull.* 64, 66–74.
- [50] So, M.K., Taniyasu, S., Lam, P.K.S., Zheng, G.J., Giesy, J.P., Yamashita, N., **2006**. Alkaline digestion and solid phase extraction method for perfluorinated compounds in mussels and oysters from south China and Japan. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50, 240–248.
- [51] Stevenson, C.N., MacManus-Spencer, L.A., Luckenbach, T., Luthy, R.G., Epel, D., **2006**. New perspective on perfluorochemical ecotoxicology: Inhibition and induction of an efflux transporter in the marine mussel, *Mytilus californianus*. *Environ. Sci. Technol.* 40, 5580–5585.
- [52] Haukas, M., Berger, U., Hop, H., Gulliksen, B., Gabrielsen, G.W., **2007**. Bioaccumulation of per- and polyfluorinated alkyl substances (PFAS) in selected species from the Barents Sea food web. *Environ. Pollut.* 148, 360–371.
- [53] Munsch, C., Marchand, P., Venisseau, A., Veyrand, B., Zendong, Z., **2013**. Levels and Trends of the Emerging Contaminants HBCDs (hexabromocyclododecanes) and PFCs (perfluorinated Compounds) in Marine Shellfish along French Coasts. *Chemosphere* 91, 233–240.
- [54] Higgins, C.P., McLeod, P.B., MacManus-Spencer, L.A., Luthy, R.G., **2007**. Bioaccumulation of perfluorochemicals in sediments by the aquatic oligochaete *Lumbriculus variegatus*. *Environ. Sci. Technol.* 41, 4600–4606.
- [55] Vedel, A., Riisgård, H.U., **1993**. Filter-feeding in the polychaete *Nereis diversicolor*: growth and bioenergetics. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 100, 145–152.
- [56] Munoz, G., Babut, M., Lobry, J., Selleslagh, J., Tapie, N., Budzinski, H., Labadie, P. One-year monitoring of temporal variations and partitioning behavior of poly- and perfluoroalkyl substances between water, suspended particulate matter and biota in a macrotidal estuary: case study on the Gironde. Submitted to *Chemosphere*.
- [57] Helsel, D.R., **2012**. Statistics for Censored Environmental Data Using Minitab and R, 2nd ed. Wiley.
- [58] Van Ael, E., Covaci, A., Das, K., Lepoint, G., Blust, R., Bervoets, L., **2013**. Factors influencing the bioaccumulation of persistent organic pollutants in food webs of the Scheldt estuary. *Environ. Sci. Technol.* 47, 11221–11231.

CHAPITRE VI

RECHERCHE DE PFAS D'INTERET EMERGENT ANIONIQUES, CATIONIQUES, ZWITTERIONIQUES

RECHERCHE DE PFAS D'INTERET EMERGENT – ANIONIQUES, CATIONIQUES, ZWITTERIONIQUES

Dans ce chapitre, le spectre des composés poly- et perfluoroalkylés recherchés a été élargi à plusieurs familles de PFAS d'intérêt émergent de polarités variées (anioniques, zwitterioniques et cationiques). L'analyse instrumentale a été conduite par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse haute résolution (Orbitrap Q-Exactive) par une source d'ionisation electrospray à inversion rapide de polarité. Une liste de suspects à rechercher a été établie à partir de la littérature récente portant sur les PFAS nouvellement identifiés dans les formulations de mousses extinctrices de type AFFF (Place et Field, 2012 ; D'Agostino et Mabury, 2014). Notre partenaire de l'Université de McGill à Montréal nous a fait parvenir certains de ses étalons analytiques pour la quantification de fluorotélomères carboxylates ; cette collaboration nous a également permis d'obtenir 7 étalons de composés cationiques et zwitterioniques perfluoroalkylés à des fins d'optimisation et de validation de méthode. Ces 7 composés ont également été utilisés afin d'estimer la concentration des composés cationiques et zwitterioniques polyfluoroalkylés détectés dans les échantillons environnementaux.

La procédure analytique pour l'extraction des PFAS classiques et d'intérêt émergent dans la matrice sédiment a fait l'objet d'une optimisation afin d'obtenir des rendements quantitatifs pour l'ensemble des analytes ciblés (chapitre VI.1). Une évaluation préliminaire de l'occurrence des PFAS d'intérêt émergent a été conduite sur une douzaine de sédiments couvrant l'intégralité des territoires des six Agences de l'Eau en France Métropolitaine. Nous avons également analysé quelques échantillons de sédiment et de meunier noir (*Catostomus commersonii*) au niveau d'un bassin versant de la Rivière Chaudière (Québec, Canada), un site impacté en juillet 2013 suite à l'utilisation de mousses extinctrices de type AFFF lors de l'accident ferroviaire survenu le 6 juillet 2013 dans la ville de Lac-Mégantic (chapitre VI.2).

VI.1. Etude préliminaire de l'occurrence de PFAS d'intérêt émergent en France métropolitaine

Résumé

Une méthode a été développée pour l'analyse d'une vaste gamme de PFAS dans les sédiments, incluant notamment des composés zwitterioniques et cationiques récemment identifiés dans les formulations de mousses extinctrices. La procédure d'extraction a fait l'objet d'une optimisation spécifique dans le but d'obtenir des rendements adéquats (60–110 %) pour l'ensemble des analytes. L'analyse instrumentale a été conduite par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (Orbitrap) ; la source d'ionisation electrospray est opérée en mode d'inversion rapide de polarité, rendant possible l'acquisition simultanée du signal des PFAS de diverses polarités (anionique, cationique et zwitterionique). Les courbes d'étalonnage, construites dans le solvant ou dans la matrice (ajouts dosés), ont montré d'excellents coefficients de détermination ($R^2 > 0,994$) sur deux à trois ordres de grandeur, et les limites de détection étaient comprises entre 0,0006–0,46 ng g⁻¹ de poids sec. La reproductibilité est satisfaisante, les variations intra- et inter-journalières restant inférieures à 9 et 23 %, respectivement. Cette méthode a été appliquée à une douzaine de sédiments prélevés en France Métropolitaine dans le cadre de la campagne prospective 2012. Le perfluorooctane sulfonate est systématiquement détecté (gamme de concentrations du PFOS : 0,084–23 ng g⁻¹ de poids sec) et domine largement le profil moléculaire des acides perfluoroalkylés (PFAA). La recherche de suspects a mis à jour l'ubiquité des fluorotélomères sulfonamido amines (FTA) et des fluorotélomères sulfonamido bétaïnes (FTAB) dans ces échantillons (concentrations estimées jusqu'à 7,6 ng g⁻¹ de poids sec), en particulier dans les cours d'eau situés au voisinage des aéroports où des activités de lutte contre le feu impliquant l'utilisation de mousses extinctrices de type AFFF pourraient avoir lieu périodiquement.

Gabriel Munoz^{a,b}, Sung Vo Duy^b, Pierre Labadie^c, Fabrizio Botta^d, Hélène Budzinski^c, François Lestremau^d, Jinxia Liu^e, Sébastien Sauv  ^{b,*}

^b: Department of Chemistry, Université de Montréal, C.P. 6128, Succursale Centre-Ville, Montréal, QC, Canada, H3C 3J7.

^c: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France.

^d. INERIS, Parc Technologique Alata, BP2, 60550 Verneuil-en-Halatte, France.

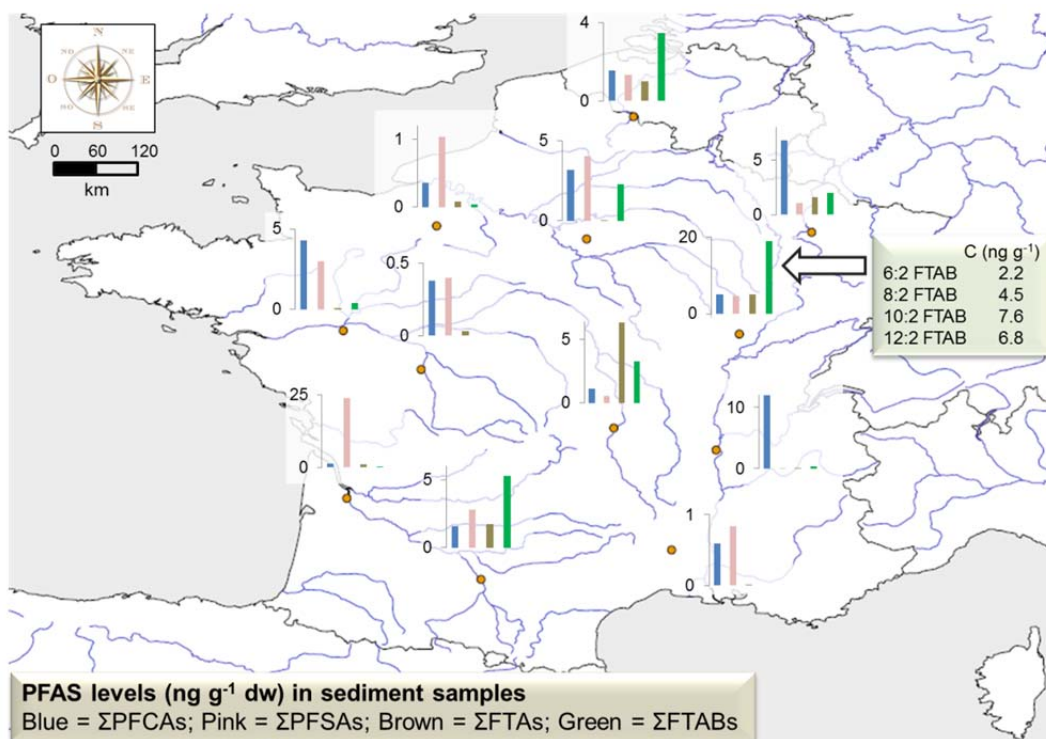
^e: McGill University, Department of Civil Engineering, 817 Sherbrooke Street West, Montreal, QC, Canada, H3A 0C3.

*Corresponding author. Contact: sebastien.sauve@umontreal.ca

To be submitted to

Talanta

GRAPHICAL ABSTRACT



ABSTRACT

A new analytical method is proposed for the determination of a wide span of fluoroalkylated substances (PFASs) of various chain lengths and polarities in sediments, including newly-identified compounds such as zwitterionic and cationic PFASs. Extraction conditions were optimized so as to maintain a common preparation procedure for all analytes (recovery range: 60–110 %). Instrumental analysis was performed with ultra-high performance liquid chromatography coupled to Orbitrap mass spectrometry through polarity-switching electrospray ionization. Calibration curves with excellent coefficients of determination ($R^2 > 0.994$) were generally obtained over 0.002–10 ng g⁻¹ dry weight (dw) (LOD range: 0.0006–0.46 ng g⁻¹ dw). Intra-day precision remained < 9 % and inter-day precision < 23 %. While perfluorooctane sulfonate (PFOS) generally prevailed over other anionic PFASs in sediments from mainland France, fluorotelomer sulfonamide amines and fluorotelomer sulfonamide betaines were also ubiquitous in these samples (max: 7.6 ng g⁻¹ dw), especially in the vicinity of airports wherein firefighting training activities may occur on a regular basis.

KEYWORDS

Aqueous Film Forming Foams (AFFFs) – Firefighting foams – Sediments – Zwitterionic and Cationic Fluorosurfactants – Fluorotelomer sulfonamide amines – Optimization

1. INTRODUCTION

Poly- and perfluoroalkyl compounds (PFASs) are strategic chemicals that have been manufactured and used for decades due to their unique surfactant properties (Buck et al., 2011; Krafft and Riess, 2015). Since the first landmark papers suggested their environmental persistence, potential adverse effects, and global dissemination (Moody and Field, 1999; Giesy and Kannan, 2001; Renner, 2001), PFASs have garnered considerable attention from the science community, especially medium- to long-chain perfluoroalkyl sulfonates (PFSA) and perfluoroalkyl carboxylates (PFCAs) due to their bioaccumulation and biomagnification potential (Martin et al., 2004; Tomy et al., 2004; de Vos et al., 2008; Houde et al., 2011).

Heedful of these issues, the United Nations Environmental Program appended the Stockholm Convention in 2009 to include perfluorooctane sulfonate (PFOS) under the list of persistent organic pollutants. The emissions of PFOS are now believed to be on the decline amid increasingly stringent regulations and use restrictions. However, PFOS production is still in effect, for instance in China, and a number of specific sectors (e.g. hydraulic fluids for aircrafts) benefit from derogations due to exemptions from the article restriction under REACH Annex XVII and listed accepted purposes in the Stockholm Convention. Major manufacturers in the world have also committed to the voluntary phase-out of perfluorooctanoate (PFOA) by 2015 (2010/2015 PFOA Stewardship Program). It has been recently suggested that long-chain PFCAs and PFSA may be increasingly shunted towards the production of shorter-chain homologues (e.g., C₆-based) (Ahrens and Bundschuh, 2014; Sheringer et al., 2014), hence the relatively high occurrence and levels that have sometimes been observed for the latter in surface waters (Ahrens et al., 2009; Möller et al., 2010; Munoz et al., 2015a; Valsecchi et al., 2015). Although these compounds may readily reach groundwater ecosystems due to their higher mobility (Eschauzier et al., 2013; Vierke et al., 2014; Lopez et al., 2015), they are not expected to show as much bioaccumulation potential as their longer-chain homologues.

However, recent observations suggest that the commonly monitored PFSA and PFCAs only partially reflect the total organic fluorine compounds that can be found in environmental samples (Yeung et al., 2009; Loi et al., 2011; Houtz and Sedlak, 2012; Yeung et al., 2013). For years, the less bioaccumulative fluorotelomer sulfonates (FTSA) have been used in aqueous film forming foam (AFFF) formulations, leading to elevated levels in groundwater or surface water at specific monitoring sites (e.g., Schultz et al., 2004; Ahrens et al., 2015). In addition, newly-identified PFASs include, but are not limited to, polyfluoroalkyl sulfates (Liu et al., 2015), cyclic perfluoroalkyl sulfonates (De Silva et al., 2011), perfluoroalkyl phosphonic acids (D'eon et al., 2009), perfluoroalkylsulfonamide phosphate diesters (Benskin et al., 2012), short-chain perfluoroalkyl sulfonamides (Houtz et al., 2013; McGuire et al., 2014), hydro- or chlorine- substituted perfluoroalkyl carboxylates (Liu et al., 2015), chlorine-substituted perfluoroalkyl sulfonates (Rotander et al., 2015), and chlorine-substituted fluorotelomer ether sulfonates (Ruan et al., 2015). The advent of unknown compound elucidation through high resolution mass spectrometry recently paved the way for the identification of a variety of zwitterionic

and cationic PFASs (Place and Field, 2012; D'Agostino and Mabury, 2014). Although there is still limited data on the environmental occurrence, fate and effects of PFAS alternatives (Ahrens and Bundschuh, 2014; Hoke et al., 2015; Wang et al., 2015), it has been hypothesized that substitutes containing perfluoroalkyl or polyfluoroalkyl moieties may eventually degrade to recalcitrant forms such as PFCAs and PFSAAs (Liu et al., 2010; Wang et al., 2011; Liu and Mejia Avendaño, 2013; Mejia Avendaño and Liu, 2015).

To date, only a few papers have reported on the analysis of cationic or amphoteric PFASs in firefighting foam formulations (Place and Field, 2012; D'Agostino and Mabury, 2014), groundwater (Backe et al., 2013), or soils (Moe et al., 2012). One can readily infer that developing a single analytical procedure that can encompass a wide span of PFASs of various chain lengths and different polarities is an essential and delicate task, especially for complex matrices such as sediments. Another obvious pitfall lies in the current lack of available native and isotope-labelled standards for cationic and zwitterionic PFASs, making it challenging to estimate their concentration in environmental samples.

The transfer of PFASs from sediments to aquatic biota is of particular concern, especially benthic fish or invertebrates that dwell on it (Martin et al., 2004; Bertin et al., 2014). It is therefore essential to document the occurrence and levels of PFASs in sediments, which may subsequently be used to predict the concentration of PFASs in aquatic biota. In this context, a new analytical procedure was developed to investigate the environmental occurrence of a wide spectrum of PFASs in sediment samples. A total of 30 model PFASs were selected for optimization and validation purposes, including 23 legacy PFASs and 7 novel cationic or zwitterionic PFASs. Instrumental analysis was conducted by ultra-high performance liquid chromatography coupled to a Q-Exactive Orbitrap mass spectrometer through a polarity-switching electrospray ionization source, allowing acquisition of all analytes in a single run. The extraction step was also optimized to maintain a common preparation procedure for all PFAS analytes. Method validation included assessment of blank contamination, linearity, detection limits, matrix effects, recovery, accuracy and precision. The newly developed method was subsequently applied to a selection of 12 riverine and lake sediment samples collected at large spatial scale through mainland France (Munoz et al., 2015a). In addition to the 30 PFASs initially used for method optimization and validation, samples were screened for more than 60 infrequently reported PFASs of various chemistries (i.e. chain lengths and functional groups) and contrasted polarities. In particular, the suspect list included zwitterionic and cationic PFASs that have been recently identified in AFFF formulations (Place and Field, 2012; D'Agostino and Mabury, 2014). To the knowledge of the authors, this is the first study to report on the environmental occurrence of cationic and zwitterionic fluorosurfactants in riverine sediments.

2. EXPERIMENTAL

2.1. Chemicals and Materials

19 native anionic and neutral PFASs were purchased from Wellington Laboratories (Ontario, Canada) and had chemical purities > 98%; PFAC-MXB contained a mixture of 17 PFASs at $2\ \mu\text{g mL}^{-1}$ in MeOH (for PFSAs, $2\ \mu\text{g mL}^{-1}$ as the salt), including $\text{C}_4\text{--C}_{18}$ PFCAs and $\text{C}_4\text{--C}_{10}$ PFSAs; perfluorooctane sulfonamide (FOSA) and sodium 1H,1H,2H,2H-perfluorooctane sulfonate (6:2 FTSA) were purchased separately and were at 50 and $47.4\ \mu\text{g mL}^{-1}$ in MeOH, respectively. Standards of fluorotelomer unsaturated acids (6:2 FTUA, 8:2 FTUA) as well as fluorotelomer carboxylic acids (5:3 FTCA, 7:3 FTCA) were donated by DuPont USA (Wilmington, DE, USA). Isotope-labelled internal standards (IS) were purchased from Wellington Labs (Ontario, Canada) and had chemical purities > 98% and isotopic purities > 99% per ^{13}C or > 94% per ^{18}O . MPFAC-MXB contained 9 IS at $2\ \mu\text{g mL}^{-1}$ in MeOH (for PFSAs, $2\ \mu\text{g mL}^{-1}$ as the salt). Details on analyte name, chemical formula, theoretical and measured exact mass, and corresponding IS are given in the Supporting Information (SI) (**Table S1**).

HPLC-water, HPLC-water containing 0.1% formic acid (HCOOH), methanol (MeOH), and acetonitrile (ACN) were obtained from Fisher Scientific (Whitby, ON, Canada), as was ammonium hydroxide (NH_4OH , purity 28–30% in water). Sodium hydroxide (NaOH , purity > 97 %) and HCOOH (purity > 95%) were from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Nitrogen (N_2) (purity 99.998 %) was from MEGS Inc. (St-Laurent, QC, Canada). Supelclean ENVI-Carb cartridges (250 mg/6 mL) were obtained from Supelco (Bellefonte, PA, USA).

2.2. Synthesis and Characterization of Model Zwitterionic and Cationic Compounds

Seven model cationic or zwitterionic perfluoroalkyl compounds were custom-synthesized at the Surfactant Institute at Peking University (China) for method optimization and validation purposes, and were all provided at $2\ \mu\text{g mL}^{-1}$ in MeOH (**Fig.1**). Chemical purities (based on NMR data) were > 98 % for perfluorooctaneamido ammonium salt (PFOAAmS, CAS# 335-90-0) and perfluorooctanesulfonamido ammonium salt (PFOSAmS, CAS# 1652-63-7), > 97 % for perfluorooctanesulfonamido amine oxide (PFOSNO, CAS# 30295-51-3), > 96 % for perfluorooctaneamido amine oxide (PFOANO, CAS# 30295-53-5) and perfluorooctanesulfonamide amine (PFOSAm, CAS# 13417-01-1), and > 95 % for perfluorooctaneamido betaine (PFOAB, CAS# 90179-39-8) and perfluorooctanesulfonamido betaine (PFOSB, CAS# 75046-16-1).

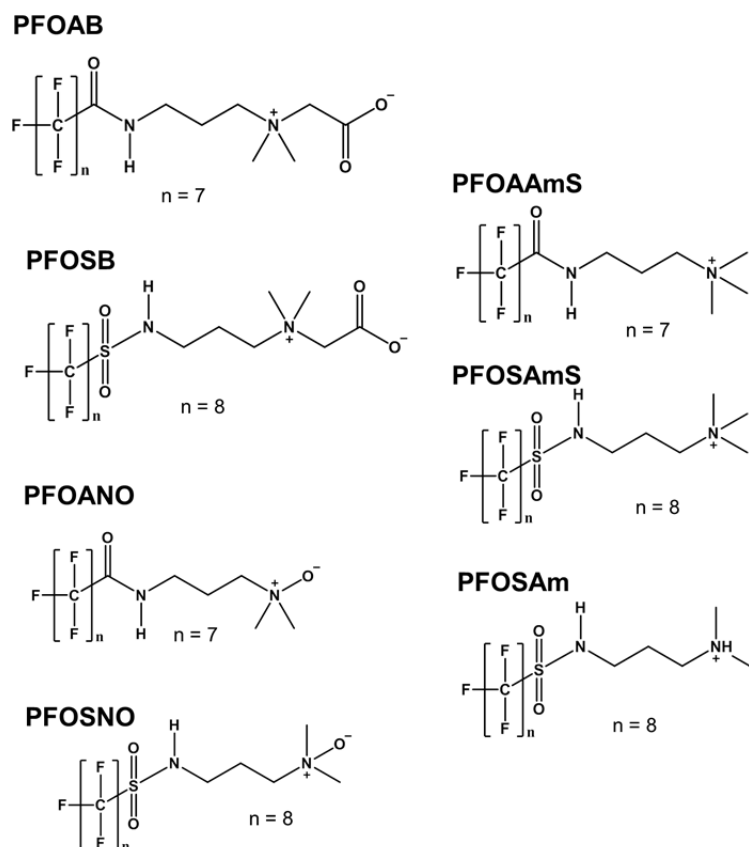


Fig.1. Illustration of the 7 cationic and amphoteric model analytes used for optimization, validation, and quantitation purposes in the present study.

$C_8F_{17}SO_2NHC_3H_6N(CH_3)_2$ is the key intermediate in the preparation of surfactants with a sulfonamide functional group. It was obtained by reacting perfluorooctane sulfonyl fluoride ($C_8F_{17}SO_2F$) with N,N-dimethyl-1,3-propanediamine. The other cationic/amphoteric/non-ionic surfactants were produced by reacting $C_8F_{17}SO_2NHC_3H_6N(CH_3)_2$ with methyl iodide (CH_3I), sodium chloroacetate ($ClCH_2COONa$) and hydrogen peroxide (H_2O_2), respectively. The first two reactions are quaternizations while the last one is an oxidation. In a similar fashion, surfactants with the amide functional group were synthesized using $C_7F_{15}CONHC_3H_6N(CH_3)_2$ as the key intermediate.

1H and ^{19}F NMR spectroscopic experiments were performed on a Bruker ARX-400 spectrometer to confirm chemical structures and for purity analysis of final products. For instance, NMR data of PFOSAms are: ^{19}F NMR (376.47 MHz, $CDCl_3$) δ : -81.3 (ω - CF_3), -112.0 (α - CF_2), -121.0 (β - CF_2), -122.1 ($3\times CF_2$), -123.2 (ζ - CF_2), -125.6 (θ - CF_2); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.95 (m, 2H, $-CH_2-$), 2.87 (m, 2H, $-NH-CH_2-$), 3.22 (m, 11H, $3\times CH_3$ & $-CH_2-N(CH_3)_3$). Upon receipt, the identity of each compound was further confirmed by determining its accurate mass using a Q-Exactive Orbitrap mass spectrometer in house.

2.3. Sample Collection

Sediment samples ($n = 12$) were collected across mainland France, under the framework of the 2012 National Screening Study on Emerging Contaminants (Vulliet et al., 2014; Munoz et al., 2015a). Although only a subset (12/133) of the initially targeted sites was considered in the present study for suspect screening of PFASs, a good geographical coverage was achieved, which encompassed the six French Water Basins: Artois-Picardie (S-1), Rhin-Meuse (S-2), Seine-Normandie (S-3–4), Loire-Bretagne (S-5–7), Adour-Garonne (S-8 and S-12), and Rhône-Méditerranée (S-9–11) (**Fig.2**). At each site, composite sediment samples were collected in aluminum trays from 3 evenly spaced points, the upper layer (1–5 cm) of the sediment being sampled. Samples were stored in a cooling box ($5 \pm 3^\circ\text{C}$), pending shipment to the laboratory. Sediment grain-size (fine fraction content: mass percent fraction of the $< 63\ \mu\text{m}$ fraction over the $< 2\ \text{mm}$ fraction) and total organic carbon (TOC) content were determined as described elsewhere (Munoz et al., 2015a). Sediment samples were freeze-dried, conditioned in 15 mL high density polyethylene (HDPE) tubes, and stored at 4°C until analysis. Details on sample code, location, TOC and grain-size are supplied in the SI (**Table S2**).

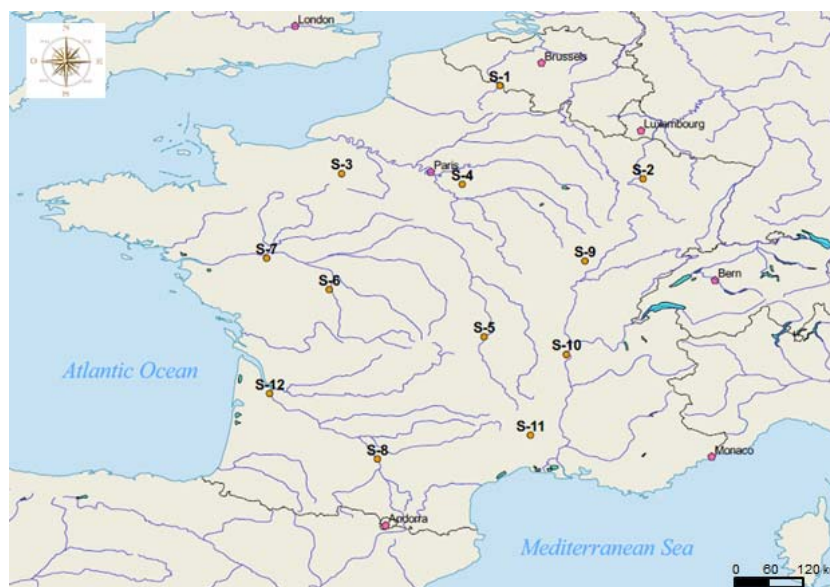


Fig.2. Map showing the spatial distribution of the sampling sites investigated at 12 locations across France.

2.4. Extraction and Clean-up of Sediment Samples

Additions of matrix and standard solutions were systematically controlled by gravimetry. Extraction of sediment samples was based on the ultrasonic extraction method described by Bertin et al. (2014), with some modifications. Sediment samples (1 g dry weight (dw)) were weighed in 15 mL glass tubes. Following the addition of IS (2 ng each) to the samples, the spiked IS were left to equilibrate with the sample material for $> 1\ \text{h}$ at room temperature. After addition of 5 mL of basic methanol (NaOH 20 mM in MeOH), samples were briefly vortexed and extracted in an ultrasonic bath for 20 min. Extracts were

centrifuged (5000 rpm, 3 min) and the supernatants were transferred to clean 15 mL glass tubes. The ultrasonic extraction step was repeated once with 5 mL of basic methanol and a final rinse step was performed with 2 mL of basic methanol. The combined extracts were evaporated to approximately 2 mL under a gentle stream of N₂ and moderate heating (~40 °C), after which a clean-up step was performed using ENVI-Carb graphite cartridges (250 mg/6 mL) previously conditioned with 5 mL of MeOH. Extracts were passed through the ENVI-Carb sorbent and collected in 15 mL glass tubes; cartridges were finally rinsed with 5 mL of MeOH and the resulting extracts were neutralized with HCOOH. Extracts were evaporated to a final volume of 200 µL (N₂, ~40 °C), transferred to 250 µL polypropylene vials, and stored at -20 °C until analysis.

2.5. Instrumental Analysis

Chromatographic operating conditions were adapted from a procedure initially developed by Labadie and Chevreuil (2011). The Dionex Ultimate 3000 LC chain was controlled via the Chromeleon 7.2 Software (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA, and Dionex Softron GmbH part of Thermo Fisher Scientific, Germany). A Thermo Hypersil Gold aQ column (100 x 2.1 mm; dp = 1.9 µm) was used for analyte separation. The aqueous mobile phase consisted of HPLC-water with 0.1% HCOOH (v/v) and the organic mobile phase of ACN with 0.1% HCOOH (v/v). Flow rate was set at 0.55 mL min⁻¹, injection volume at 5 µL, and column inlet temperature at 40°C. Details on chromatographic gradient elution conditions are supplied in the SI (**Table S3**). The heated electrospray ionization source was used with the following settings: sheath gas flow rate was 40 arbitrary units (a.u.), auxiliary gas flow rate 15 a.u., sweep gas flow rate 0 a.u., capillary temperature 320°C and vaporizer temperature 350°C. Spray voltage was either -4 kV or +4 kV (fast polarity-switching mode). Analyte detection was performed using a Q-Exactive Orbitrap mass spectrometer controlled by the Xcalibur 2.3 software (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Orbitrap parameters were set as follows: AGC (maximum capacity in C-trap) was set at 5 x 10⁶, maximum injection time at 50 ms, and resolution at 70,000 FWHM at 200 m/z (Munoz et al., 2015b). The mass scan range was set at 150–1000 m/z (Full Scan mode).

2.6. Analyte Identification and Quantification

Analytes were quantified using the isotopic dilution method, the IS being added at the beginning of the preparation procedure to correct for potential recovery losses or matrix effects. 1/x weighted linear regressions were used, based on 10-point solvent-based calibration curves which ranged between 0.01–40 ng mL⁻¹. Note that, when applicable, sample concentrations were corrected for background contamination by subtracting the mean procedural blank (n=7).

Due to the lack of authentic analytical standards for some of the investigated compounds, analytes were grouped into three categories, following the classification proposed by Backe et al. (2013). Briefly, analytes for which native analytes and suitable corresponding IS were available were classified as quantitative (Qn) analytes (anionic and neutral model analytes, e.g.: PFDS, quantified against ¹³C₄-PFOS). Native positive mode analytes such as PFOAaMS, PFOSAaMS, PFOAB, PFOSB, PFOANO, PFOSNO and PFOSAaM were quantified against ¹³C₄-PFOS due to the lack of available isotope-

labelled internal standards, and were therefore coined as semi-quantitative (Sq) (**Fig.1**). Qn and Sq analytes were used as model compounds for method optimization and validation purposes, representing a wide spectrum of chemistries (anionic, neutral, amphoteric, cationic) and hydrophobicity (e.g., C₄–C₁₈ PFCAs) among PFASs. In addition, the 150-1000 m/z full scan acquisition mode enabled the screening of other analytes which were quantified assuming equimolar response to a structurally-related native compound. When an applicable match was used, these analytes were classified as semi-quantitative (Sq), and qualitative (QI) otherwise (see SI **Fig.S1** and **Tables S5-S6**) (accurate mass tolerance: -4 ppm < δ < +4 ppm). For instance, in the case of FTABs, concentrations were estimated using the calibration curve of PFOSB (due to molecular structure similarities, PFOSB being the perfluoroalkyl analogue of 6:2 FTAB) and ¹³C₄-PFOS as internal standard. In the case of FTAs, concentrations were estimated using the calibration curve of PFOSAm (the perfluoroalkyl analogue of 6:2 FTA), and ¹³C₄-PFOS as the internal standard. Both FTAs and FTABs were therefore considered as Sq analytes. A full list of investigated Sq or QI suspect molecules is enclosed in the SI (**Tables S5-S6**).

2.7. Method Validation

A series of 7 procedural blanks were run and consisted of glass tubes (with solvent and IS) that went through the entire analytical procedure except for sediment sample addition. The blanks levels observed for PFBA and 6:2 FTSA were quite variable (2.6 ± 1.6 and 0.55 ± 0.42 ng, respectively); therefore, these compounds were only investigated in a qualitative fashion in our final method. Procedural blanks generally showed low to moderate contamination (< 0.03 ng), with the noteworthy exception of PFOA, yet at very reproducible levels (0.50 ± 0.10 ng). None of the cationic or amphoteric Sq or QI compounds were detected in procedural blanks. For full details on procedural blanks, see **Table S4** of the SI.

When analytes were found in procedural blanks, data were blank-corrected and the limit of detection (LOD) was determined as the standard deviation of the blanks multiplied by the $t_{n-1,95}$ Student coefficient, n being the number of blank replicates (Muir and Sverko, 2006). Otherwise, the LOD was derived from the error on the y-intercept and the slope of the regression of the calibration curve (Fayad et al., 2010).

Linearity was examined through solvent-based and matrix-based approaches: 10-level calibration curves were built, the IS mass added being kept constant and the linearity range tested covering > 3 decades (0.01–40 ng mL⁻¹). Matrix effects (%) were derived by comparing the slopes obtained by the two approaches.

A sediment sample from the St Lawrence River (Québec, Canada) with relatively low anionic PFAS content ($\Sigma\text{PFASs}^- < 1 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$) was used for method validation, following fortification (see below).

Analyte recovery during sample preparation was determined by spiking the sediment matrix at 10 ng g⁻¹ dw. For each replicate, recovery (expressed in %) was calculated using Eq.1:

$$Recovery = 100 * \frac{SB-NS}{SA-NS} \text{ (Eq.1)}$$

with SB the analyte to internal standard area ratio observed in a sediment sample spiked before extraction with native analytes, SA the analyte to internal standard area ratio observed in a sediment sample spiked after sample preparation with native analytes, and NS the analyte to internal standard area ratio of the reference (non-spiked sediment sample). In all three cases, the appropriate IS were added after sample preparation.

Method accuracy was evaluated at two concentration levels (1 and 10 ng g⁻¹ dw) (n=5) by spiking native analytes jointly with IS to sediment samples at the beginning of the preparation procedure, and was expressed as a percentage of the expected value.

Intra-day precision was assessed likewise and corresponded to the relative standard deviation (RSD) of five replicates analyzed on a same work day. The analysis was repeated on a second and third work day and inter-day precision derived from the overall RSD (n=15).

2.8. Statistics and GIS

Statistical analysis was performed with the R statistical software (R version 2.15.3, R Core Team, 2013). Statistical significance was defined as $p < 0.05$. The ade-4 R-package was used to perform Principal Component Analysis (PCA). Quantum GIS 1.8.0 “Lisbona” (QGIS) was used as a geographic information system, and base maps were downloaded from Natural Earth (URL: <<http://www.naturalearthdata.com>>).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Method Optimization

Preliminary experiments showed that the polarity switching mode did not adversely affect instrumental detection limits or linearity when compared to the separate acquisition mode, all the while maintaining an acceptable number of points per peak (see SI **Fig.S2** for details). Therefore, positive mode and negative mode PFAS analytes were analyzed within a single run. Acidic mobile phases (containing 0.1 % HCOOH) were preferred to those containing ammonium acetate for the appreciable signal improvement for cationic and amphoteric analytes (SI **Fig.S3**). Another noteworthy progress obtained with the acidic mobile phase was the better retention observed for short-chain compounds (e.g., PFBA, PFPeA), due to the increase of the proportion of these analytes in their neutral form. A minimal injection volume of 5 µL was finally selected, since higher injection volumes (≥ 10 µL) of 100% methanolic extracts induced analyte breakthrough and peak fronting for early eluting analytes (SI **Fig.S4**) which are more prone to viscous fingering effect (Homsy, 1987).

Following the selection of suitable chromatographic conditions, the influence of extraction conditions on analyte recovery was investigated. ACN was discarded for the low recovery rates it yielded for

short-chain PFCAs, fluorotelomer carboxylates and 6:2 FTSA, or cationic and amphoteric analytes (< 35 %) (SI **Fig.S5**). MeOH was excellent for a majority of analytes (25/30), yet failed to quantitatively recover betaines (PFOAB, PFOSB) and quaternary amines (PFOAAmS, PFOSAmS) (**Fig.3**), presumably a consequence of strong ionic interactions at the sediment surfaces (Smith et al., 1991). Addition of NH_4OH to MeOH had little or no effect on PFOAAmS recovery (< 30 %), and quantitative extraction of the latter (> 65 %) was finally obtained using MeOH/ NaOH 20 mM (**Fig.3**). Note that the NaOH concentration was not tested at a level higher than 20 mM because of the recovery loss observed for 6:2 FTUA and 8:2 FTUA at concentrations > 10 mM (**Fig.3**). Using the MeOH/ NaOH 20 mM extraction solvent, quantitative recoveries were obtained for all analytes (recovery range: 60–110 %) (**Table 1**).

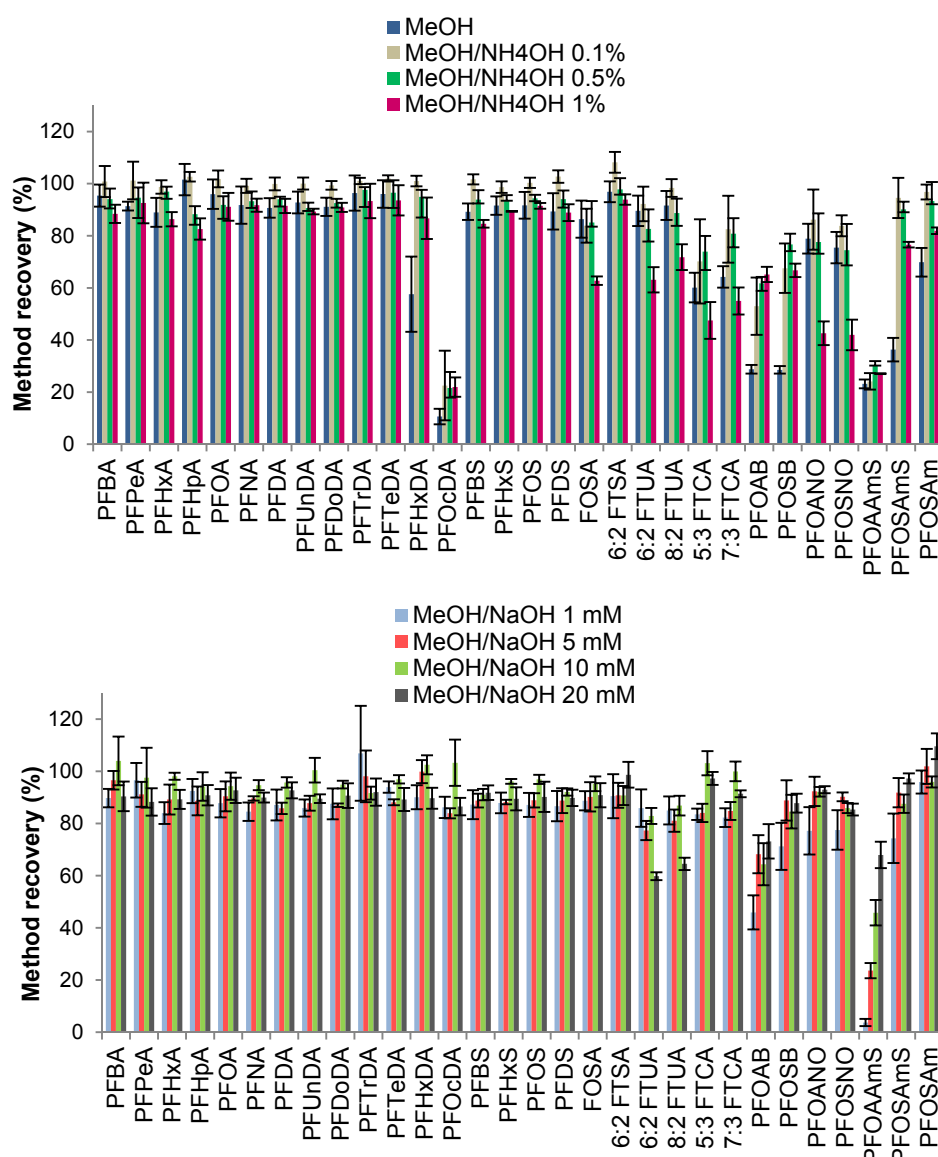


Fig.3. Influence of NH_4OH and NaOH addition to methanol on whole method recovery rates for Quebec sediment samples spiked at $10 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ with PFAS analytes. Error bars indicate standard deviation ($n=3$).

3.2. Assessment of Linearity and Matrix Effects

Five- to ten-point calibration curves ($1/x$ weighted linear regressions) were built for both solvent-based and matrix-based approaches. Excellent coefficients of determinations (R^2) were obtained (0.9947–0.9999) and residuals generally deviated $< \pm 20\%$ from the calculated trend line over the whole linearity range which spanned 2–3 orders of magnitude. Note that the deviation at the highest calibration level tested was always $< 5\%$, suggesting that the linear domain may extend beyond 40 ng mL^{-1} for all analytes. Full details on R^2 , linearity range, as well as information on the deviation between observed and calculated-back relative response, are outlined in the SI (**Tables S7-S8**). Matrix effects were acceptable overall, the matrix-based calibration curve slope being comprised between $\pm 20\%$ of the solvent-based one for most analytes, with the exception of PFOANO and PFOSNO (-38 and -41%) (SI **Fig.S6**). Therefore, it was deemed acceptable to quantify analytes in sediment samples from a solvent-based calibration curve instead of the standard addition approach which is in practice cumbersome to implement.

3.3. Method Performance

Key figures of merit for the method performance (accuracy, intra-day and inter-day precision) are supplied in the SI (**Table S9**).

LODs were in the range $0.00056\text{--}0.24\text{ ng g}^{-1}\text{ dw}$ for negative mode Qn analytes and $0.0091\text{--}0.46\text{ ng g}^{-1}\text{ dw}$ for positive mode Sq analytes (**Table 1**). Limits of quantification (LOQs) were then defined as the most severe of the two following approaches: i) 3.3 times the LOD or ii) derived from the lowest level of the linearity range (**Table 1**).

Since no standard reference materials are currently available for the analysis of PFASs in sediment matrices, our extraction procedure was validated on sediment samples fortified at two levels (1 and $10\text{ ng g}^{-1}\text{ dw}$) (**Table S9**). Accuracy rates were excellent for Qn analytes, remaining between $80\text{--}120\%$ for $19/21$ analytes (range $68\text{--}124\%$ for all Qn analytes), and were not influenced by the spike level. The lower accuracy rates observed for several positive mode Sq analytes (e.g., $43\text{--}55\%$ for betaines, $25\text{--}50\%$ for amido amine oxides) somewhat reflect matrix effects or losses during the preparation procedure that were not compensated for by ^{13}C -PFOS. These results further underscore the need for appropriate isotope-labelled standards to improve quantification performances. Regardless of spike level, repeatability and reproducibility were excellent, intra-day precision being always better than 9% and inter-day precision always better than 23% for all model analytes.

Table 1. Limits of detection (LODs), limits of quantification (LOQs), and recovery rates and corresponding relative standard deviations (RSD, %) of the herein described method.

	LOD* (ng g ⁻¹ dw)	LOQ** (ng g ⁻¹ dw)	Recovery rates*** (%)	RSD**** (%)
PFPeA	0.0067 ^b	0.020 ^c	88	6
PFHxA	0.038 ^a	0.11 ^c	89	4
PFHpA	0.0077 ^a	0.023 ^c	91	4
PFOA	0.24 ^a	0.72 ^c	93	5
PFNA	0.011 ^b	0.033 ^c	90	2
PFDA	0.0034 ^a	0.010 ^c	93	3
PFUnDA	0.0043 ^a	0.013 ^c	89	2
PFDODA	0.0059 ^a	0.017 ^c	91	5
PFTTrDA	0.0025 ^a	0.0075 ^c	92	6
PFTeDA	0.0049 ^a	0.015 ^c	89	5
PFHxDA	0.030 ^a	0.090 ^c	90	4
PFOcDA	0.055 ^a	0.17 ^c	86	4
PFBS	0.0020 ^b	0.0060 ^c	92	3
PFHxS	0.0021 ^a	0.0063 ^c	89	5
PFOS	0.00090 ^a	0.0027 ^c	90	6
PFDS	0.0036 ^b	0.011 ^c	90	3
FOSA	0.00056 ^a	0.0020 ^d	91	5
6:2 FTUA	0.059 ^b	0.18 ^c	60	2
8:2 FTUA	0.020 ^b	0.060 ^c	65	4
5:3 FTCA	0.046 ^b	0.14 ^c	97	3
7:3 FTCA	0.042 ^b	0.13 ^c	91	1
PFOAB	0.015 ^b	0.05 ^c	73	9
PFOSB	0.033 ^b	0.10 ^d	88	4
PFOANO	0.0091 ^b	0.027 ^c	93	1
PFOSNO	0.019 ^b	0.10 ^d	85	3
PFOAAmS	0.46 ^b	1.4 ^c	68	7
PFOSAmS	0.048 ^b	0.14 ^c	97	2
PFOSAm	0.034 ^b	0.10 ^c	110	4

*LODs were derived (a) from the standard deviation of 7 procedural blanks multiplied by the $t_{6,95\%}$ Student coefficient, or (b) from the calibration curve, based on the error on the y-intercept and the slope of the regression. **The LOQ was either set at 3 x LOD (c) or at the lowest point of the linearity range (d). ***Based on sediment samples spiked at 10 ng g⁻¹ dw with Qn and Sq model analytes (for more details on recovery experiments, see also **Section 2.7**). ****Relative standard deviation (%) on replicate recovery tests (n=3).

3.4. Method Demonstration and Suspect Screening of PFASs in Sediments

Investigation of Qn and Sq analytes

With the exception of fluorotelomer carboxylates (6:2 FTUA and 8:2 FTUA), all Qn model analytes were quantified at least once in the 12 sediment samples targeted. PFOS and long-chain PFCAs (C₁₀-C₁₄) were systematically or near-systematically detected while short-chain PFCAs (C₅-C₇) were only anecdotally reported, akin to the PFAS occurrence generally described for sediments (e.g., Ahrens et al., 2010). PFOS was dominant in most samples, accounting on average for 44 ± 25 % of Σ PFASs, PFOS concentrations varying substantially across sites (0.084–23 ng g⁻¹ dw) (**Table 2a**). Sediment S-10 from the Rhône River exhibited a starkly divergent profile with the predominance of PFCAs (> 98 % Σ PFASs), especially PFTTrDA (35 % Σ PFCAs). We attribute this peculiar signature to a fluorochemical plant operating in this watershed (Dauchy et al., 2012; Munoz et al., 2015a). A number of other anionic compounds were screened in full scan mode but were either not detected or comparable to the procedural blanks (see SI **Table S6** for the full list of investigated Sq or QI suspects). Positive mode Sq analytes were only sporadically detected in these samples (PFOSB: 3/12; PFOANO: 2/12; PFOSAmS: 1/12; PFOSAm: 1/12), remaining at sub ng g⁻¹ dw levels (**Table 2b**).

Suspect screening of newly-identified PFASs

Suspect screening in full scan mode led to the identification of a series of homologous fluorotelomer sulfonamide betaines (FTABs) in most samples. The pattern of $\sim + 1$ min observed between retention times was consistent with an increase of two $-\text{CF}_2$ units (**Fig.4**), and the deviation from nominal mass remained comprised between -1.5 and +0.60 ppm (SI **Table S5**). For confirmation purposes, sediment extract S-9 was reanalyzed in t-MS² positive ionization mode (normalized collision energy (NCE) = 30%) and three characteristic fragment ions were identified for each FTAB: loss of fragment 1 (betaine group: $[(\text{CH}_3)_2\text{NHCH}_2\text{COOH}]^+$, m/z=104.07061) to form fragment 2, and subsequent ethylene loss to form fragment 3 (**Fig.4**) (see also D'Agostino and Mabury, 2014). 6:2 FTAB was detected in 12/12 samples, with a maximum estimated concentration of 3.9 ng g⁻¹ dw at site S-5, nearly ten-fold higher than that of PFOS. Other FTABs, such as 8:2 FTAB, 10:2 FTAB and 12:2 FTAB were also frequently reported, displaying maximum estimated concentrations at site S-9 (4.5, 7.6 and 6.8 ng g⁻¹ dw, respectively) (**Table 2b**).

Table 2a. Concentrations (ng g⁻¹ dw) of quantitative (Qn) anionic and neutral PFAS analytes in the sediment samples investigated (not detected: 6:2 FTUA and 8:2 FTUA). When applicable, concentrations were blank-corrected.

	S-1	S-2	S-3	S-4	S-5	S-6	S-7	S-8	S-9	S-10	S-11	S-12
PFPeA	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.062	<LOD	0.15	0.035	<LOD	0.041
PFHxA	<LOD	4.3	<LOD	<LOD	0.13	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.32	<LOD	<LOD
PFHpA	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.0032	<LOD	<LOD	0.096	0.13	<LOD	0.064
PFOA	0.56*	<LOD	<LOD	0.43*	0.35*	0.28*	0.36*	<LOD	<LOD	1.3	0.50*	0.37*
PFNA	<LOD	<LOD	0.086	0.22	<LOD	<LOD	0.14	0.068	0.34	0.37	<LOD	0.044
PFDA	0.092	0.17	0.067	0.96	0.086	0.013	2.0	0.39	0.45	2.8	0.034	0.17
PFUnDA	0.054	0.20	0.045	0.22	0.075	0.020	0.66	0.28	0.39	0.99	<LOD	0.24
PFDoDA	0.32	1.38	0.085	0.75	0.28	0.042	0.82	0.65	2.2	1.3	0.028	0.24
PFTTrDA	0.069	0.14	0.021	0.13	0.057	0.0073*	0.17	0.084	0.37	4.2	0.018	<LOD
PFTeDA	0.13	0.39	0.032	0.28	0.088	0.011*	0.084	0.12	0.92	0.42	0.0091*	0.24
PFHxDA	0.12	0.099	< LOD	0.10	0.033*	<LOD	<LOD	<LOD	0.19	0.13	<LOD	<LOD
PFOcDA	0.23	0.12*	<LOD	0.064*	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
PFBS	0.0030*	0.011	0.0037*	0.0071	<LOD	0.0057	0.012	<LOD	0.011	<LOD	<LOD	0.053
PFHxS	0.039	0.073	0.023	0.090	0.114	0.013	0.074	0.037	0.30	0.0025*	0.021	0.53
PFOS	1.3	0.96	1.0	3.9	0.40	0.37	2.9	2.7	4.2	0.084	0.81	23
PFDS	0.014	0.018	0.015	0.012	0.0064*	0.014	0.0048*	0.035	0.16	<LOD	<LOD	0.27
FOSA	<LOD	0.23	0.011	0.053	0.053	0.021	0.013	0.038	0.24	0.0024	0.042	0.55
5:3 FTCA	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.078*	<LOD	0.42	<LOD	<LOD	0.090*	<LOD	<LOD
7:3 FTCA	0.19	<LOD	<LOD	0.37	0.32	<LOD	0.36	<LOD	0.42	<LOD	<LOD	<LOD
ΣPFASs (Qn)	3.2	8.1	1.4	7.6	2.1	0.79	8.0	4.4	11	12	1.5	25

*Tentatively determined concentrations (comprised between LOD and LOQ).

Table 2b. Estimated concentrations (ng g⁻¹ dw) of semi-quantitative (Sq) amphoteric and cationic PFAS analytes in the sediment samples investigated (not detected Sq analytes: PFOAB, PFOSNO, PFOAAmS).

	S-1	S-2	S-3	S-4	S-5	S-6	S-7	S-8	S-9	S-10	S-11	S-12
PFOSB	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.31	<LOD	<LOD	<LOD	0.35	<LOD	<LOD	0.95
PFOANO	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.15	<LOD	<LOD	<LOD	0.14	<LOD	<LOD	<LOD
PFOSAmS	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1.0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
PFOSAm	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1.0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
6:2 FTA	0.95	1.5	0.078	0.021	6.1	0.032	0.079	1.7	4.8	0.076	0.0092	1.2
8:2 FTA	0.068	0.077	ND*	ND	0.17	ND	ND	0.026	0.38	ND	ND	ND
6:2 FTAB	0.54	0.54	0.23	3.5	3.9	0.023	3.0	1.9	2.2	0.23	0.12	0.26
8:2 FTAB	0.84	0.43	0.042	1.0	2.5	ND	0.35	2.1	4.5	0.077	ND	ND
10:2 FTAB	1.7	0.89	ND	0.77	0.66	ND	ND	1.9	7.6	0.15	ND	ND
12:2 FTAB	0.93	0.67	ND	0.48	0.087	ND	ND	1.3	6.8	0.019	ND	0.11
ΣPFASs (Sq)	5.0	4.1	0.35	5.8	16	0.055	3.4	8.9	27	0.55	0.13	2.5

*ND: Not detected. Since that no standards were available for FTAs and FTABs, no LODs could be reported for the latter in the present study.

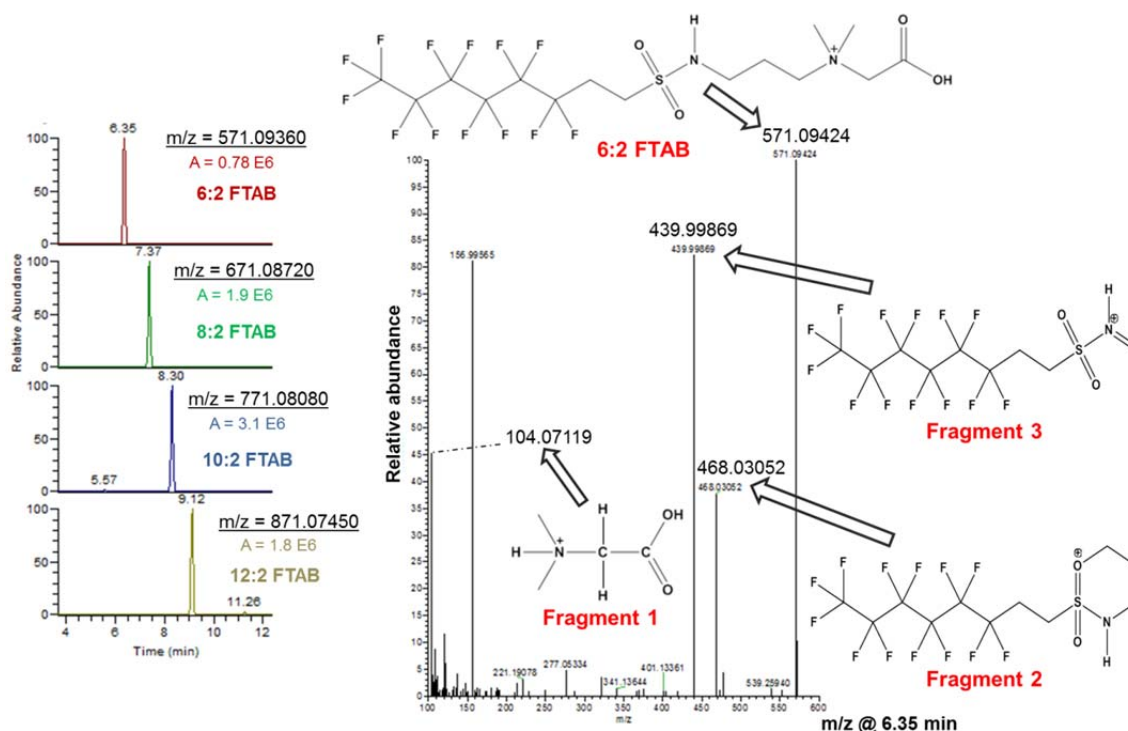


Fig.4. Identification of a series of homologous fluorotelomer sulfonamide betaines in sediment sample S-9 from the Rhône water district with accurate mass and observation of retention time patterns and illustration of the Orbitrap t-MS² spectrum obtained at 6.35 min for structural confirmation of 6:2 FTAB, also in sediment sample S-9.

Similarly, 6:2 and 8:2 fluorotelomer sulfonamide amines (FTAs) were identified based on retention time patterns (+1.08 min between the latter two) and accurate mass (SI **Fig.S7**), the observation of characteristic fragments in t-MS² mode providing further confirmation (SI **Fig.S8**) (see also SI **Table S5**). Sites S-5 and S-9 exhibited elevated levels of 6:2 FTA (6.1 and 4.8 ng g⁻¹ dw, respectively), while 8:2 FTA was less prominent (0.17–0.38 ng g⁻¹ dw) (**Table 2b**). Overall, these results may suggest the predominance of telomerization-based AFFFs rather than electrochemical fluorination-based AFFFs in metropolitan France (Place and Field, 2012). Note that although fluorotelomer betaines were included in the suspect list, they were not detected (SI **Table S6**). These results provide the first evidence of the widespread occurrence of these novel PFASs in freshwater ecosystems.

Investigation of spatial distribution and sources to aquatic environments

The average Σ PFASs⁺ (total of amphoteric and cationic Sq analytes) was 6.1 ng g⁻¹ dw (median: 3.8 ng g⁻¹ dw; range: 0.055–27 ng g⁻¹ dw), similar to that of Σ PFASs⁻ (total of anionic and neutral Qn analytes) (mean: 7.0 ng g⁻¹ dw; median: 6.0 ng g⁻¹ dw; range: 0.79–25 ng g⁻¹ dw). Interestingly, maximum Σ PFASs⁻ concentrations did not necessarily imply high Σ PFASs⁺ concentrations, and conversely, as shown in the multivariate analysis approach. The first factorial component of the PCA

(Dim 1: 42.8% of inertia) corresponded to high ΣPFASs^+ levels, highlighting sites S-5 and S-9, and, to a lesser extent, site S-8 (SI **Fig.S9**). The second factorial component (Dim 2: 21.9% of inertia) highlighted sampling sites affected by strong urban pressures (S-12: $\Sigma\text{PFASs} = 24 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$) or urban/industrial pressures (S-10, downstream from a polyvinylidene fluoride manufacturing plant). In sediment S-5 (Le Bédât à Saint-Laure), ΣPFASs^+ was estimated at $16 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ ($8 \times > \Sigma\text{PFASs}^-$). The Bédât river is a shallow river characterized by a low water flow rate (mean $< 2 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ over the 2000–2015 period) (<hydro.eaufrance.fr>) and a small scale watershed ($< 400 \text{ km}^2$). Before flowing through the Saint-Laure commune, the Bédât River receives waters from a small brook (Ruisseau des Ronzières) which passes just a few hundred yards from the Clermont-Ferrand main waste water treatment plant (WWTP) (nominal capacity: 425,000 population equivalents). In addition to urban and industrial inputs, this WWTP likely receives waters from the adjacent Clermont-Ferrand airport wherein firefighting training activities involving AFFFs may occur on a regular basis. Even if sediment sample S-5 exhibited low organic content (0.91 %) and coarse grain-size characteristics (fine fraction content $< 3 \%$), the small dilution capability of the Bédât River may partly explain the high ΣPFASs^+ observed at this location. Maximum ΣPFASs^+ was observed at site S-9 ($27 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$) (L'Ouche à Crimolois). The River Ouche is also characterized by a rather low water flow rate (mean $< 9 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ over the 1963–2015 period) (<hydro.eaufrance.fr>) and flows through the town of Dijon before reaching Crimolois. While the relatively high PFOS concentration ($4.2 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$) likely reflects urban inputs from the Dijon conurbation, the specific FTAB signature ($\Sigma\text{FTABs} = 21 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$) may be attributed to the presence of the Dijon-Bourgogne airport, situated $< 2 \text{ km}$ upstream from S-9. Similarly, firefighting training activities at Toulouse-Blagnac airport may partly explain the substantial ΣPFASs^+ ($8.9 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$) observed in the Garonne River at site S-8, although urban sources may also contribute to the PFAS load.

Correlations between PFAS sedimentary levels and sediment characteristics were tentatively assessed via the calculation of Spearman's rank order coefficients (SI **Table S10**). ΣPFASs was strongly related to fine fraction content or COT, concurring with previous observations for metropolitan France (Munoz et al., 2015a). Significant correlation coefficients were reported for $\Sigma\text{FTABs}/\Sigma\text{FTAs}$ ($\rho = 0.65$), pointing to similar sources or environmental fate. The 6:2 FTA to 8:2 FTA ratio was highly variable (29 ± 22 on average; number of matching pairs $n_{\text{mp}} = 5/12$). Based on differences in perfluoroalkyl chain length and the hydrophobic properties thereof, even higher 6:2 FTA to 8:2 FTA ratios might be expected in the dissolved phase. These preliminary findings must however be taken with caution since only a limited number of sampling sites were considered in the present survey ($n=12$).

4. CONCLUSIONS

The proposed analytical procedure has proven robust, reliable and sensitive for the determination of a wide spectrum of amphoteric, cationic, neutral and anionic PFASs in sediments. Regardless of analyte chain-length or polarity, excellent recovery rates could be obtained for all model analytes (60–110 %)

while matrix effects remained moderate (<25 % for most compounds), making it eligible for routine analyses using solvent-based calibration curves; arguably, the herein described method could also be transposed to other mass spectrometry platforms. The method was suitable for suspect screening of a large range of PFASs within a single run, which led to the positive identification of several polyfluoroalkyl cationic or zwitterionic analytes in sediment samples. In addition, the satisfactory chromatographic retention observed even for PFBA, PFPeA or PFBS through the use of an acidic mobile phase also suggests that the instrumental conditions of the proposed method could be applied as-is for the analysis of even shorter-chain congeners without any additional chromatographic requirements, provided one operates at low injection volumes to circumvent viscous fingering effects.

Given its broad geographical coverage in France, this survey provides a valuable source of information on the widespread occurrence of amphoteric and cationic PFASs in hydrosystems. In particular, fluorotelomer sulfonamide amines and fluorotelomer sulfonamide betaines were ubiquitous in these samples. Hot spots of positive mode compounds (ΣPFASs^+ range: 8.9–27 ng g⁻¹ dw) were associated with the presence of airports, suggesting the existence of firefighting trainings involving AFFFs at these sites. Natural attenuation of amphoteric and cationic PFASs is expected through biodegradation of the fluorine-free moiety, yet may entail the formation of more environmentally persistent forms. The partitioning behavior of amphoteric and cationic PFASs warrants future research on their fate, including determination of water-sediment partitioning coefficients or degradation kinetics under environmentally relevant conditions. Biomonitoring and ecotoxicological studies are also needed to dispel or validate concerns about the bioaccumulation, biomagnification potential and toxicity of these fluorosurfactants.

ACKNOWLEDGMENTS

The French Ministry of Ecology, the French National Office for Water and Aquatic Environments (ONEMA) as well as River Basin Agencies are acknowledged for the sediment samples provided (with funding from the 2012 national screening study). The authors thank Mélanie Desrosiers from the Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec (CEAEQ) for the Quebec sediment sample provided. This study has been carried out with financial support from the French National Research Agency (ANR) in the frame of the "Investment for the Future" program, within the Cluster of Excellence COTE (ANR-10-LABX-45). The authors thank the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, the Fond de recherche du Québec, and the Canadian Foundation for Innovation for their financial support. We also acknowledge technical support from Thermo Fischer Scientific. IdEx Bordeaux (ANR-10-IDEX-03-02) provided the mobility and PhD grant allocated to G. Munoz.

REFERENCES

- Ahrens, L., Felizeter, S., Sturm, R., Xie, Z., Ebinghaus, R., **2009**. Polyfluorinated compounds in waste water treatment plant effluents and surface waters along the River Elbe, Germany. *Mar. Pollut. Bull.* 58, 1326–1333.
- Ahrens, L., Taniyasu, S., Yeung, L.W.Y., Yamashita, N., Lam, P.K.S., Ebinghaus, R., **2010**. Distribution of polyfluoroalkyl compounds in water, suspended particulate matter and sediment from Tokyo Bay, Japan. *Chemosphere* 79, 266–272.
- Ahrens, L., Bundschuh, M., **2014**. Fate and effects of poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: a review. *Environ. Toxicol. Chem.* 33, 1921–1929.
- Ahrens, L., Norström, K., Viktor, T., Cousins, A.P., Josefsson, S., **2015**. Stockholm Arlanda Airport as a source of per- and polyfluoroalkyl substances to water, sediment and fish. *Chemosphere* 129, 33–38.
- Backe, W.J., Day, T.C., Field, J.A., **2013**. Zwitterionic, cationic, and anionic fluorinated chemicals in aqueous film forming foam formulations and groundwater from U.S. military bases by nonaqueous large-volume injection HPLC-MS/MS. *Environ. Sci. Technol.* 47, 5226–5234.
- Benskin, J.P., Ikonomou, M.G., Gobas, F.A.P.C., Woudneh, M.B., Cosgrove, J.R., **2012**. Observation of a novel PFOS-precursor, the perfluorooctane sulfonamido ethanol-based phosphate (SAmPAP) diester, in marine sediments. *Environ. Sci. Technol.* 46, 6505–6514.
- Bertin, D., Ferrari, B.J.D., Labadie, P., Sapin, A., Garric, J., Budzinski, H., Houde, M., Babut, M., **2014**. Bioaccumulation of perfluoroalkyl compounds in midge (*Chironomus riparius*) larvae exposed to sediment. *Environ. Pollut.* 189, 27–34.
- Buck, R.C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J.M., Cousins, I.T., De Voogt, P., **2011**. Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: terminology, classification and origins. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 7, 513–541.
- D'Agostino, L.A., Mabury, S.A., **2014**. Identification of novel fluorinated surfactants in aqueous film forming foams and commercial surfactant concentrates. *Environ. Sci. Technol.* 48, 121–129.
- Dauchy, X., Boiteux, V., Rosin, C., Munoz, J.F., **2012**. Relationship between industrial discharges and contamination of raw water resources by perfluorinated compounds. Part I: case-study of a fluoropolymer manufacturing plant. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 89, 525–530.
- D'eon, J.C., Crozier, P.W., Furdui, V.I., Reiner, E.J., Libelo, E.L., Mabury, S.A., **2009**. Perfluorinated phosphoric acids in Canadian surface waters and wastewater treatment plant effluent: discovery of a new class of perfluorinated acids. *Environ. Toxicol. Chem.* 28, 2101–2107.
- De Silva, A.O., Spencer, C., Scott, B.F., Backus, S., Muir, D.C.G., **2011**. Detection of a cyclic perfluorinated acid, perfluoroethylcyclohexane sulfonate, in the Great Lakes of North America. *Environ. Sci. Technol.* 45, 8060–8066.
- de Vos, M.G., Huijbregts, M.A.J., van den Heuvel-Greve, M.J., Vethaak, A.D., Van de Vijver, K.I., Leonards, P.E.G., van Leeuwen, S.P.J., de Voogt, P., Hendriks, A.J., **2008**. Accumulation of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in the food chain of the Western Scheldt estuary: Comparing field measurements with kinetic modeling. *Chemosphere* 70, 1766–1773.
- Eschauzier, C., Raat, K.J., Stuyfzand, P.J., de Voogt, P. **2013**. Perfluorinated alkylated acids in groundwater and drinking water: Identification, origin and mobility. *Sci. Tot. Environ.* 458–460, 477–485.
- Fayad, P.B., Prévost, M., Sauvé, S., **2010**. Laser Diode Thermal Desorption/Atmospheric Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry Analysis of Selected Steroid Hormones in Wastewater: Method Optimization and Application. *Anal. Chem.* 82, 639–645.
- Giesy, J.P., Kannan, K., **2001**. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environ. Sci. Technol.* 35, 1339–1342.
- Hoke, R.A., Ferrell, B.D., Ryan, T., Sloman, T.L., Green, J.W., Nabb, D.L., Mingoia, R., Buck, R.C., Korzeniowski, S., **2015**. Aquatic hazard, bioaccumulation and screening risk assessment for 6:2 fluorotelomer sulfonate. *Chemosphere* 128, 258–265.

- Homsy, G.M., **1987**. Viscous fingering in porous media. *Ann. Rev. Fluid Mech.* 19, 271–311.
- Houde, M., De Silva, A.O., Muir, D.C.G., Letcher, R.J., **2011**. Monitoring of Perfluorinated Compounds in Aquatic Biota: An Updated Review. *Environ. Sci. Technol.* 45, 7962–7973.
- Houtz, E.F., Sedlak, D.L., **2012**. Oxidative conversion as a means of detecting precursors to perfluoroalkyl acids in urban runoff. *Environ. Sci. Technol.* 46, 9342–9349.
- Houtz, E.F., Higgins, C.P., Field, J.A., Sedlak, D.L., **2013**. Persistence of perfluoroalkyl acid precursors in AFFF-impacted groundwater and soil. *Environ. Sci. Technol.* 47, 8187–8195.
- Labadie, P., Chevreuil, M., **2011**. Partitioning behaviour of perfluorinated alkyl contaminants between water, sediment and fish in the Orge River (nearby Paris, France). *Environ. Pollut.* 159, 391–397.
- Liu, J., Wang, N., Buck, R.C., Panciroli, P.K., Folsom, P.W., Sulecki, L.M., Bellin, C.A., **2010**. Fluorotelomer alcohol aerobic biodegradation in soil and mixed bacterial culture. *Chemosphere* 78, 437–444.
- Liu, J., Mejia Avendaño, S., **2013**. Microbial degradation of polyfluoroalkyl chemicals in the environment: A review. *Environ. Int.* 61, 98–114.
- Liu, Y., Dos Santos Pereira, A., Martin, J., **2015**. Discovery of C5 – C17 Poly- and Perfluoroalkyl Substances in Water by In-Line SPE-HPLC-Orbitrap with In-Source Fragmentation Flagging. *Anal. Chem.*, in press.
- Loi, E.I.H., Yeung, L.W.Y., Taniyasu, S., Lam, P.K.S., Kannan, K., Yamashita, N., **2011**. Trophic magnification of poly- and perfluorinated compounds in a subtropical food web. *Environ. Sci. Technol.* 45, 5506–5513.
- Lopez, B., Ollivier, P., Togola, A., Baran, N., Ghestem, J.P., **2015**. Screening of French groundwater for regulated and emerging contaminants. *Sci. Tot. Environ.* 518–519, 562–573.
- Martin, J.W., Whittle, D.M., Muir, D.C.G., and Mabury, S.A., **2004**. Perfluoroalkyl Contaminants in a Food Web from Lake Ontario. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5379–85.
- McGuire, M.E., Schaefer, C., Richards, T., Backe, W.J., Field, J.A., Houtz, E., Sedlak, D.L., Guelfo, J.L., Wunsch, A., Higgins, C.P., **2014**. Evidence of Remediation-Induced Alteration of Subsurface Poly- and Perfluoroalkyl Substance Distribution at a Former Firefighter Training Area. *Environ. Sci. Technol.* 48, 6644–6652.
- Mejia Avendaño, S., Liu, J., **2015**. Production of PFOS from aerobic soil biotransformation of two perfluoroalkyl sulfonamide derivatives. *Chemosphere* 119, 1084–1090.
- Moe, M.K., Huber, S., Svenson, J., Hagenaaers, A., Pabon, M., Trümper, M., Berger, U., Knapen, D., Herzke, D., **2012**. The structure of the fire fighting foam surfactant Forafac®1157 and its biological and photolytic transformation products. *Chemosphere* 89, 869–875.
- Möller, A., Ahrens, L., Sturm, R., Westerveld, J., van der Wielen, F., Ebinghaus, R., de Voogt, P., **2010**. Distribution and sources of polyfluoroalkyl substances (PFAS) in the River Rhine watershed. *Environ. Pollut.* 158, 3243–3250.
- Moody, C.A., Field, J.A., **1999**. Determination of perfluorocarboxylates in groundwater impacted by fire-fighting activity. *Environ. Sci. Technol.* 33, 2800–2806.
- Muir, D., Sverko, E., **2006**. Analytical methods for PCBs and organochlorine pesticides in environmental monitoring and surveillance: a critical appraisal. *Anal. Bioanal. Chem.* 386, 769–789.
- Munoz, G., Giraudel, J.L., Botta, F., Lestremau, F., Dévier, M.H., Budzinski, H., Labadie, P., **2015a**. Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: a French nationwide survey. *Sci. Tot. Environ.* 517, 48–56.
- Munoz, G., Vo Duy, S., Budzinski, H., Labadie, P., Liu, J., Sauvé, S., **2015b**. Quantitative analysis of poly- and perfluoroalkyl compounds in water matrices using high resolution mass spectrometry: Optimization for a laser diode thermal desorption method. *Anal. Chim. Acta* 881, 98–106.
- Place, B.J., Field, J.A., **2012**. Identification of novel fluorochemicals in aqueous film-forming foams used by the US military. *Environ. Sci. Technol.* 46, 7120–7127.

R Core Team, 2013. R: a Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. (ISBN 3-900051-07-0, URL <<http://www.R-project.org>>).

Renner, R., **2001**. Growing Concern Over Perfluorinated Chemicals. Evidence of toxic effects and environmental impacts has sent researchers scrambling to obtain more data. *Environ Sci. Technol.* 35, 154–160.

Rotander, A., Kärman, A., Toms, L.M.L., Kay, M., Mueller, J.F., Gómez Ramos, M.J., **2015**. Novel fluorinated surfactants tentatively identified in firefighters using liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry and a case-control approach. *Environ Sci. Technol.* 49, 2434–2442.

Ruan, T., Lin, Y., Wang, T., Liu, R., Jiang, G., **2015**. Identification of novel polyfluorinated ether sulfonates as PFOS alternatives in municipal sewage sludge in China. *Environ. Sci. Technol.*, in press (DOI: 10.1021/acs.est.5b01010).

Schultz, M.M., Barofsky, D., Field, J.A., **2004**. Quantitative Determination of Fluorotelomer Sulfonates in Groundwater by LC MS/MS. *Environ Sci. Technol.* 38, 1828–1835.

Sheringer, M., Trier, X., Cousins, I.T., De Voogt, P., Fletcher, T., Wang, Z., Webster, T.F., **2014**. Helsingør Statement on poly- and perfluorinated alkyl substances (PFASs). *Chemosphere* 114, 337–339.

Smith, J.A., Tuck, D.M., Jaffé, P.R., Mueller, R.T., **1991**. Effect of surfactants on the mobility of nonpolar organic contaminants in porous media. In *Organic Substances and Sediments in Water Volume 1 Humics and Soils*, Ed. Baker, R.A.

Tomy, G.T., Budakowski, W., Halldorson, T., Helm, P.A., Stern, G.A., Friesen, K. Pepper, K., Tittlemier, S.A., and Fisk A.T., **2004**. Fluorinated Organic Compounds in an Eastern Arctic Marine Food Web. *Environ. Sci. Technol.* 38, 6475–6481.

U.S. Environmental Protection Agency. 2010/2015 PFOA Stewardship Program. <http://www.epa.gov/opptintr/pfoa/pubs/stewardship/>, accessed 2015/05/06.

Valsecchi, S., Rusconi, M., Mazzoni, M., Viviano, G., Pagnotta, R., Zaghi, C., Serrini, G., Polesello, S., **2015**. Occurrence and sources of perfluoroalkyl acids in Italian river basins. *Chemosphere* 129, 126–134.

Vierke, L., Möller, A., Klitzke, S., **2014**. Transport of perfluoroalkyl acids in a water-saturated sediment column investigated under near-natural conditions. *Environ. Pollut.* 186, 7–13.

Vulliet, E.; Berlioz-Barbier, A.; Lafay, F.; Baudot, R.; Wiest, L.; Vauchez, A.; Lestremau, F.; Botta, F.; Cren-Olivé, C., **2014**. A national reconnaissance for selected organic micropollutants in sediments on French territory. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 11370–11379.

Wang, Z., Cousins, I.T., Scheringer, M., Hungerbühler, K., **2015**. Hazard assessment of fluorinated alternatives to long-chain perfluoroalkyl acids (PFAAs) and their precursors: Status quo, ongoing challenges and possible solutions. *Environ. Int.* 75, 172–179.

Yeung, L.W.Y., Miyake, Y., Wang, Y., Taniyasu, S., Yamashita, N., Lam, P.K.S., **2009**. Total fluorine, extractable organic fluorine, perfluorooctane sulfonate and other related fluorochemicals in liver of Indo-Pacific humpback dolphins (*Sousa chinensis*) and finless porpoises (*Neophocaena phocaenoides*) from South China. *Environ. Pollut.* 157, 17–23.

Yeung, L.W.Y., De Silva, A.O., Loi, E.I.H., Marvin, C.H., Taniyasu, S., Yamashita, N., Mabury, S.A., Muir, D.C.G., Lam, P.K.S., **2013**. Perfluoroalkyl substances and extractable organic fluorine in surface sediments and cores from Lake Ontario. *Environ. Int.* 59, 389–397.

VI.2. Emergence de tensioactifs polyfluoroalkylés anioniques, zwitterioniques et cationiques chez le meunier noir *Catostomus commersonii* suite à l'utilisation de mousses anti-incendie de type AFFF lors de l'accident ferroviaire de Lac-Mégantic (Québec, Canada)

Résumé

La nuit du 5 au 6 juillet 2013, un convoi ferroviaire transportant huit millions de litres de pétrole brut léger a déraillé au niveau de Lac-Mégantic (Québec). Cet accident est à l'origine d'un gigantesque incendie qui a duré près de deux jours durant lesquels environ 33 000 litres de mousses extinctrices de type AFFF ont été utilisés. La présente étude avait pour objectif d'évaluer l'occurrence de composés poly- et perfluoroalkylés (PFAS) dans les sédiments et le meunier noir (*Catostomus commersonii*) au niveau du lac Mégantic et de la rivière Chaudière adjacente. Les composés polyfluoroalkylés zwitterioniques dominent nettement le profil moléculaire de PFAS dans les sédiments par rapport aux acides perfluoroalkylés (PFAA) (94 % Vs 3 %). Les teneurs de PFAA observées dans les filets de *C. commersonii* sont restées relativement faibles (ex : entre 0,36 et 2,5 ng g⁻¹ de poids frais pour le PFOS) et aucune différence significative n'est apparue entre les échantillons des campagnes de 2013 ou 2014 et les échantillons antérieurs à l'accident (2011). En revanche, les teneurs de fluorotélomères sulfonates (8:2 FTSA et 10:2 FTSA) ainsi que les fluorotélomères sulfonamido bétaines (ex : 8:2 FTAB, 10:2 FTAB) et les fluorotélomères bétaines (ex : 9:1:2 FTB) sont caractérisées par un pic de contamination dans les semaines ou mois qui suivent immédiatement l'accident, avant de diminuer l'année suivante (2014). Les premiers résultats semblent indiquer une dégradation/métabolisation relativement rapide des PFAS de type bétaine, hypothèse confortée par l'observation de métabolites potentiels dans le modèle biologique à l'étude (ex : 8:2 et 10:2 fluorotélomères sulfonamides). A plus long terme, certains des PFAS nouvellement identifiés pourraient cependant entraîner la formation de PFAA.

Legacy and newly-identified fluoroalkylated surfactants in the freshwater fish *Catostomus commersonii* following firefighting foam deployment at the Lac-Mégantic railway accident

Gabriel Munoz^{a,b}, Mélanie Desrosiers^c, Sung Vo Duy^b, Pierre Labadie^d, Hélène Budzinski^d, Jinxia Liu^e, Sébastien Sauvé^{b,*}

^a: Université de Bordeaux, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France.

^b: Department of Chemistry, Université de Montréal, C.P. 6128, Succursale Centre-Ville, Montréal, QC, Canada, H3C 3J7.

^c: Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec (CEAEQ), Ministère du Développement Durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs, 2700 Einstein Street, Quebec City, QC, Canada , G1P 3W8.

^d: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France.

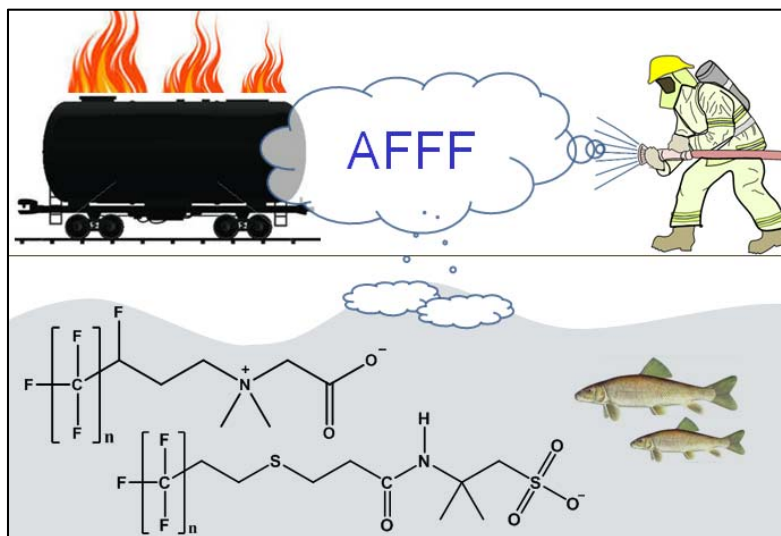
^e: McGill University, Department of Civil Engineering, 817 Sherbrooke Street West, Montreal, QC, Canada, H3A 0C3.

*Corresponding Author. Contact: sebastien.sauve@umontreal.ca

To be submitted to

Environmental Science & Technology

GRAPHICAL ABSTRACT



ABSTRACT

On July 6th 2013, an unmanned train laden with almost 8 million liters of crude oil careened off the rails downtown Lac-Mégantic, Québec. In the aftermath of the derailment accident, the emergency response entailed the deployment of aqueous film forming foams (AFFFs) that contained proprietary fluorosurfactants. The present study examines the environmental occurrence of legacy and newly-identified poly and perfluoroalkyl substances (PFASs) in the benthic fish white sucker (*Catostomus commersonii*) and sediments from Lake Mégantic and Chaudière River. In sediments, zwitterionic PFASs dominated PFAS composition profiles (~94%) while perfluoroalkyl acids (PFAAs) were less prevalent (~3%). Levels of PFAAs remained moderate in fish muscle (e.g., PFOS: 0.36–2.5 ng g⁻¹ wet-weight), with little or no significant temporal trend when comparing 2013 or 2014 fish samples with 2011 archived samples. In contrast, fluorotelomer sulfonates peaked in the immediate weeks or months that followed the accident, as did several zwitterionic PFASs such as fluorotelomer sulfonamide betaines (8:2 FTAB, 10:2 FTAB) and fluorotelomer betaines (especially 9:3 FTB, 11:3 FTB, 7:1:2 FTB, 9:1:2 FTB and 11:1:2 FTB). With time, levels of betaine-based PFASs gradually decreased in fish, possibly indicating attenuation by biodegradation of the fluorine-free moiety, supported by the observation of likely metabolites such as fluorotelomer carboxylates and fluorotelomer sulfonamides. These metabolites may convert to PFAAs in the long-run.

1. Introduction

Aqueous film forming foams (AFFFs) are fire-extinguishing agents commonly used at airports, industrial plants, oil refineries, firefighting departments, and military facilities to fight against hydrocarbon fueled fires [1]. Fluoroaliphatic surfactants are key components of AFFF formulations because of their superior heat resistance and unique tensioactive properties, facilitating the formation of a thin surface film at the fuel-foam interface that is impervious to volatile fuel vapors and deprives the fire of oxygen, thereby preventing re-ignition [1]. One of the first reported instances of fluorosurfactants in firefighting foam formulations dates back to the mid-1960s when the U.S. Naval Research Laboratory proposed anionic perfluoroalkyl derivatives to improve drastically the performances of foams used against hydrocarbon fuel-based fires [2]. Thereafter, poly or perfluoroalkyl substances (PFASs) such as perfluorooctane sulfonate (PFOS) were extensively utilized in AFFF formulations [3]. Aside from AFFFs, PFASs have proven strategic chemicals in a variety of industrial and high-tech applications, as well as in miscellaneous products including cookware, food packaging, or water and oil-resistant garments [4].

In recent years, however, concerns have arisen with respect to the environmental persistence and global distribution of PFASs, found even in locations with little anthropogenic impacts such as the open ocean [5,6] and polar regions [7,8]. The bioaccumulation and biomagnification potential of PFOS and other long-chain PFASs are particularly worrisome given their possible adverse effects [9–12]. The repeated use of AFFFs in firefighting activities has been associated with groundwater contamination plumes with total PFASs (Σ PFAS) amounting up to mg L^{-1} concentrations [13]. Etobicoke Creek, a tributary to Lake Ontario, has been the scene of several AFFF contamination episodes originating from the nearby Toronto International Airport (Ontario, Canada), leading to elevated PFOS concentrations in both surface water and biota [14–16]. Comprehensive biomonitoring surveys were conducted by de Solla et al. [17] and Gewurtz et al. [18] downstream from the Hamilton International Airport (Ontario, Canada), implicating former use of PFOS-based AFFFs as a likely contamination source, while Ahrens et al. [19] reported elevated Σ PFAS in fish muscle from Lake Halmsjön at Stockholm Arlanda Airport (Sweden).

To date, perfluoroalkyl acids (PFAAs) such as perfluoroalkyl sulfonates (PFSAs) and perfluoroalkyl carboxylates (PFCAs) have garnered the most attention of PFAS monitoring surveys. However, recent reports indicate that a considerable portion of the total organic fluorine in environmental samples may be attributed to PFAA precursors, for which only a limited number of certified analytical standards are commercially available, and other unknown PFASs [20]. One possible solution to this conundrum was proposed by Houtz and Sedlak [21] who validated an oxidation assay to convert PFAA precursors into readily measurable PFCAs. Only very recently has it become possible to identify a number of non-target anionic, amphoteric and cationic PFASs through state-of-the-art high-resolution mass spectrometry workflows [22–24]. Hence, only a few studies have hitherto reported on the environmental occurrence of newly-identified PFASs [25–29].

The present survey examines the environmental impact of a major AFFF emergency deployment in the aftermath of the 2013 Lac-Mégantic railway accident (Québec, Canada), focusing on both legacy (e.g., PFAAs) and infrequently reported PFASs. To this end, the instrumental analysis was performed with ultra-high performance liquid chromatography polarity-switching electrospray ionization coupled to Orbitrap mass spectrometry, allowing acquisition of negative- and positive-mode PFAS analytes within a single run [29]. Spatial-temporal trends of legacy and newly-identified PFASs were evaluated in freshwater fish samples collected in the adjacent Lake Mégantic and Chaudière River (downstream from the AFFF-impacted site). Preliminary assessment of field-based biota/sediment partitioning coefficients was also conducted. To our knowledge, this is one of the first studies to report on the environmental occurrence and fate of cationic and amphoteric PFASs.

2. Experimental

2.1. Description of the Lac-Mégantic railway accident and AFFF deployment

In the wee hours of July 6th 2013, rail convoy MMA-002, operated by Montreal, Maine & Atlantic Railway and carrying nearly 8 million liters of light crude oil, started to roll downhill from Nantes (Québec) where it had been parked for the night. After a seven-mile descent, the unmanned train reached the municipality of Lac-Mégantic (Québec, Canada) at a dangerous speed (~ 60 mph), causing havoc and mayhem as 63 out of the 72 tank cars derailed [30,31]. Within seconds, a major fire of burning fuel had ignited, not to be contained until almost two days of hard toil of a thousand firefighters. The accident caused a spill of approximately 6 million liters of petroleum, destroyed large parts of the city center, and claimed the lives of 47 people. A catastrophe of such environmental, economic and social consequences is unprecedented in Canada; it is also the worst terrestrial oil spill in North America since the 2010 Kalamazoo disaster [32].

In the emergency response to contain the fire, the deployment of AFFFs lasted for approximately two days and ~ 33,000 liters of foam concentrate were applied [33]. At least 4 out of the 7 firefighting formulations contained fluorosurfactants, as summarized in **Table S1** of the Supporting Information (SI). An estimated 100,000 liters of crude oil are believed to have reached the Chaudière River downstream from the accident site [31]. Likewise, it can be postulated that a portion of the AFFFs dispersed may have entered aquatic ecosystems in the Lac-Mégantic region, which provided the impetus for the present survey.

2.2. Study site and sample collection

Located in southern Quebec near the US border, housing a population of nearly 6,000 residents, Lac-Mégantic (45°34' N, 70°53' W) lies along the northeastern shore of Lake Mégantic. Chaudière River, originating from Lake Mégantic, meanders over 185 km through the Chaudière-Appalachian region before entering the St. Lawrence River from the southern bank, almost opposite Québec City (**Fig.1**). The Chaudière drains a watershed of circa 6700 km², of which an estimated 70 % are covered by

forests, 23 % by farmlands, 3.5 % by lakes, rivers, streams and wetlands, and 3.5 % by urban areas [34]. Four dams regulate part of the river flow, widely fluctuating between $< 10 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ during summer low-water periods and $> 1000 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ during spring floods (St-Lambert) [35,36].

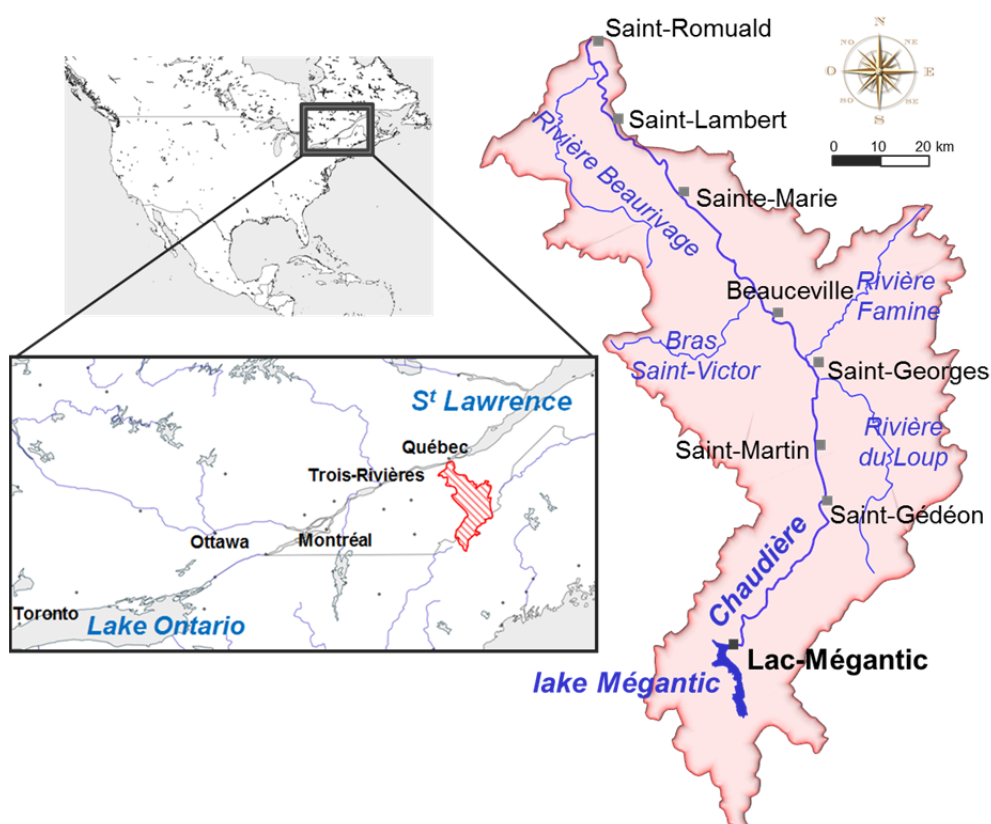


Fig.1. Map showing the general setting of the Chaudière River watershed and location of the AFFF-impacted site (town of Lac-Mégantic).

The present survey examines the first stretch of the Chaudière River (“haute Chaudière”), a sparsely populated catchment of 3075 km^2 ($12 \text{ inhabitants/km}^2$), from its source in Lake Mégantic (Kilometric Point (KP-0)) down to KP-92, after its confluence with Rivière-du-Loup (**Fig.1**). This tract of the river has been the object of intense decontamination in the early months after the derailment accident, and environmental monitoring has mainly addressed $\text{C}_{10}\text{-C}_{50}$ petroleum hydrocarbons, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), and volatile organic compounds (VOCs) [37].

Archived white sucker (*Catostomus commersonii*) fish samples ($n = 8$) (size $> 400 \text{ mm}$), collected in 2011 in Lake Mégantic, were used as a reference prior to the accident. Other white sucker samples were collected from the Chaudière River KP-0 to KP-1 section in July 2013 ($n = 3$), October 2013 ($n = 6$) and November 2014 ($n = 2$), KP-15 to KP-18 section in August 2013 ($n = 6$) and August 2014 ($n = 6$), and KP-93 in July 2013 only ($n = 3$) (size $> 300 \text{ mm}$). White suckers were also collected from Lake Mégantic in September 2013 ($n = 3$). Note that for all the aforementioned samples, a transverse slice of 2-3 cm (from the first dorsal fin toward the fish head) was carefully cut off and the fish muscle was retrieved. In addition, white sucker juveniles were collected in summer 2014 at seven sampling points

following a longitudinal gradient (KP-8.8 to KP-92.5). At each sampling location, the catch was pooled (whole body homogenates). Sediment samples (n = 13) were collected in August–September 2014 in the Lake Mégantic and along a longitudinal gradient in the Chaudière River (KP-0.6 to KP-92) (SI **Fig.S1**). Fish tissue and sediment samples were freeze-dried (> 72 h) and ground prior to analysis.

2.3. Chemicals and standards

A full list of solvents and reagents is supplied in the SI. Native anionic or neutral PFASs were purchased from Wellington Labs (ON, Canada) or donated by DuPont USA (Wilmington, DE, USA) (see **Fig.S2** of the SI for details on chemical structures). In addition, 7 perfluoroalkyl cationic or zwitterionic PFASs were synthesized to provide for model analytes for validation purposes and semi-quantification of cationic and zwitterionic suspect PFASs (SI **Fig.S3**). Details on analyte name, chemical formula, theoretical and measured exact mass, and corresponding isotope-labelled internal standard (ISs), as well as a brief description of the synthesis of model cationic or zwitterionic PFASs, are all supplied in the supplementary material.

2.4. PFAS analysis

Additions of samples and standard solutions were systematically controlled by gravimetry. ISs (2 ng each) were added to the samples, procedural blanks, and reference materials prior to extraction. A full description of the preparation procedure of samples, procedural blanks, and fortification experiments is enclosed in the SI. Briefly, sediment samples (1 g dry weight (dw)) underwent an ultrasonic extraction with basic methanol (MeOH containing 20 mM sodium hydroxide) and subsequent purification on ENVI-Carb cartridges, allowing the determination of PFASs of various chemistries [29]. Fish tissues (0.25 g dw) were extracted by ultrasonic extraction using MeOH containing 0.1 % (v/v) of ammonium hydroxide. The purification of fish extracts was then performed on Strata X-AW cartridges (200 mg/6 mL) and subsequent graphite clean-up (Envi-Carb, 250 mg/6 mL). This allowed for the investigation of anionic and zwitterionic PFASs of various chain lengths; cationic compounds of medium- to long- perfluoroalkyl chain were also included in our suspect list, the mixed-mode sorbent allowing satisfactory recovery rates for the latter (see the next paragraph).

For the sediment extraction method, excellent recovery rates (60–110 %) were obtained for all the model compounds considered (SI **Table S6**). For the biota extraction method, recovery rates were in the range 50–98 % except for long-chain (C₁₆–C₁₈) PFCAs (39 %), and relative standard deviations (RSD) remained < 15 % in most cases (SI **Table S6**). Method trueness was evaluated through the analysis of NIST SRM 1947 reference samples (multi-batch replicate measurements, n = 5); the PFAS concentrations determined in the present method compared favorably with previous reports [38,39] (SI **Table S7**). RSD averaged 3.4 % for analytes of concentrations > 0.13 ng g⁻¹ ww and 19 % for those between 0.022–0.13 ng g⁻¹ ww.

PFAS analyses were performed by ultra-high performance liquid chromatography coupled to a Q-Exactive Orbitrap mass spectrometer through a polarity switching electrospray ionization source (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), a 150–1000 m/z mass scan range being applied in full scan mode (for full details on instrumental settings, see the SI). The accurate mass calibration of the Q-Exactive mass spectrometer was performed on a five-day basis. In addition to calibration curves (see **Section 2.6**), a PFAS standard was injected at the beginning and at the end of each analytical sequence to control the retention time, absolute area, and relative response of model PFAS analytes. This also ensured the consistency of limits of detection (LODs) among different analytical sequences.

2.5. Analyte identification and quantification

Positive identification of model analytes was based on matching retention times (deviation $< \pm 2.5\%$) and exact mass (accurate mass tolerance: $-4\text{ ppm} < \delta < +4\text{ ppm}$). Analytes were quantified using the isotopic dilution method, the IS being added at the beginning of the preparation procedure to correct for potential recovery losses or matrix effects. Note that, when applicable, sample concentrations were corrected for background contamination by subtracting the mean procedural blank (see **Section 2.7**).

Matrix effects were evaluated by comparing the slope of the standard addition calibration curve in sediment or fish muscle to that in the solvent and remained moderate (SI **Table S8**). This advocated in favor of a solvent-based calibration curve for analyte quantitation. 10-point solvent-based calibration curves were therefore used (1/x weighted linear regressions), the native analyte concentration ranging 2–3 orders of magnitude ($0.01\text{--}40\text{ ng mL}^{-1}$) and the IS concentration being kept constant. Details on linearity range, R^2 , and residuals are provided in the SI (**Table S9**).

Analytes were classified according to the degree of confidence in their quantification [26]. Analytes for which native analytes and suitable corresponding ISs were available were classified as quantitative (Qn). Native positive mode analytes (PFOAAmS, PFOSAms, PFOAB, PFOSB, PFOANO, PFOSNO and PFOSAm) were quantified against $^{13}\text{C}_4$ -PFOS and were therefore classified as semi-quantitative (Sq). Qn and Sq analytes were used as model compounds to control for recovery rates and matrix effects. In addition, the 150-1000 m/z full scan acquisition mode enabled for the screening of other analytes (Qn, Sq or QI) (SI **Fig.S3**) (see also SI **Table S3**). A detailed description of the quantification strategy for analytes for which authentic standards were not available is enclosed in the SI.

2.6. Handling of data and statistical analyses

Procedural blanks were included in each extraction batch and were generally moderate and/or reproducible for both the sediment ($n = 7$) and biota ($n = 11$) procedures (SI **Tables S4–S5**), except for PFBA and 6:2 FTSA (blank levels $> 1\text{ ng}$). Therefore, the latter were not included in our method. Cationic and zwitterionic PFASs (Sq or QI) were not observable in any procedural blanks.

When applicable, data were blank-corrected and the LOD was determined as the standard deviation of the blanks multiplied by the $t_{n-1,95}$ Student coefficient (n : number of blank replicates). Otherwise, the LOD was derived from the calibration curve. Limits of quantification (LOQs) were then set at either 3.3

times the LOD or the lowest level of the linearity range. Further details on LODs and LOQs are provided in **Tables S4-S5** of the SI.

Statistical tests were performed with the R statistical software (R version 2.15.3, R Core Team, 2013). Statistical significance was defined as $p < 0.05$.

3. Results and Discussion

3.1. Occurrence, levels and composition profiles of PFAAs and other legacy PFASs

In sediments from Lake Mégantic ($n = 5$) and Chaudière River ($n = 8$), 15/21 target anionic PFASs were detected (see **Table S10** of the SI for detailed results for each sampling site). Total PFAA concentrations (Σ PFAA) varied between 0.020 and 0.19 ng g⁻¹ dw, a moderate burden compared to sediments from urban environments in Canada [40] and Europe [41,42] but similar to observations from some remote Canadian Arctic lakes (e.g., North Lake, Nunavut) [39]. PFOS was systematically quantified and was in the range 0.0030–0.028 ng g⁻¹ dw, yet accounted for only 17 ± 11 % of Σ PFAA on average, compared to 80 ± 13 % for Σ PFCA (of these, ~ 72 % for C₁₀–C₁₄ PFCAs). This is in line with composition profiles reported by Lescord et al. [39] who observed relatively high proportions of Σ PFCA in atmospherically-supplied lakes from the Canadian High Arctic, while those of more locally-contaminated lakes were rather dominated by PFOS. Close to the accident site (KP-0.6) (Σ PFAA = 0.13 ng g⁻¹ dw), sediment composition profiles differed from other sites, with uncommonly high relative abundances of short-chain PFCAs (40, 18 and 14 % of Σ PFAA for PFPeA, PFHxA and PFHpA, respectively), while the contribution of PFOS was only ~ 2 % of Σ PFAA. This could indicate that the AFFF formulations used at the Lac-Mégantic derailment site originally contained trace levels of short-chain PFCAs (either as impurities or as degradation byproducts of key AFFF polyfluoroalkyl compounds). Alternatively, the high proportion of short-chain PFCAs observed could more likely result from the environmental degradation of 6:2 fluorotelomer-based AFFF compounds after the spill [43,44].

In fish muscle ($n = 36$), PFOS and long-chain PFCAs (C₉–C₁₃) were found systematically, and high detection frequencies were also reported for PFHxS, PFDS, FOSA and 7:3 FTCA (94–97 %). In contrast, short-chain PFCAs (C₅–C₈) were only sporadically detected (8–31 %), and PFBS not detected at all. This agrees with observations that PFAAs of short perfluoroalkyl chain length are less bioaccumulative than their longer chain analogues [41,45]. On the overall dataset ($n = 36$), Σ PFAA was 3.7 ± 1.6 ng g⁻¹ ww on average (median: 3.5 ng g⁻¹ ww; range: 1.1–7.4 ng g⁻¹ ww), nearly 100-fold lower than levels previously reported for bullhead catfish (*Ameiurus spp.*) or European perch (*Perca fluviatilis*) near other AFFF-impacted sites [17,19]. PFOS levels remained steadily at around 1.2 ng g⁻¹ ww over the period covered by this study (2011–2014) (**Table 1**). This strongly suggests that the AFFFs utilized at Lac-Mégantic derailment site were not PFOS-based. It should also be mentioned that no exceedances of environmental quality standards were reported: PFOS levels in fish muscle remained ~ 4 –50 times lower than the current guideline from the European Union (9.1 ng g⁻¹ ww) or

Environment Canada (4.6 or 8.2 ng g⁻¹ ww) for the protection of piscivorous mammals or birds [46,47], and ~ 3000–23000 times lower than that of Environment Canada (8300 ng g⁻¹ ww) for the protection of fish itself [47].

Table 1. Detection frequency and concentration range (min–max) of PFAAs and other “legacy” PFASs in adult white sucker samples from the Lake Mégantic and Chaudière River, arranged according to sampling year (Not detected: PFHxDA, PFOcDA, PFBS, 6:2 FTUA, 8:2 FTUA). Concentrations are expressed in ng g⁻¹ wet weight (ww) (muscle) and were blank-corrected when applicable.

	Detection Frequency (%)			Concentration Range (ng g ⁻¹ ww)		
	2011 (n = 8)	2013 (n = 20)	2014 (n = 8)	2011 (n = 8)	2013 (n = 20)	2014 (n = 8)
PFPeA	25	25	13	<LOD–0.080	<LOD–0.062	<LOD–0.012
PFHxA	0	15	0	<LOD	<LOD–0.048	<LOD
PFHpA	25	35	25	<LOD–0.018	<LOD–0.16	<LOD–0.054
PFOA	0	10	13	<LOD	<LOD–0.21	<LOD–0.17
PFNA	100	100	100	0.14–0.82	0.014–1.5	0.12–0.33
PFDA	100	100	100	0.27–0.81	0.091–0.89	0.15–0.57
PFUnDA	100	100	100	0.71–2.5	0.14–1.4	0.29–0.91
PFDODA	100	100	100	0.28–1.1	0.079–0.66	0.21–0.45
PFTTrDA	100	100	100	0.47–1.4	0.073–1.1	0.16–0.34
PFTeDA	75	70	13	<LOD–0.11	<LOD–0.12	<LOD–0.045
PFHxS	75	100	100	<LOD–0.017	<LOD–0.060	0.0061–0.033
PFOS	100	100	100	0.81–1.87	0.36–2.5	0.61–1.9
PFDS	88	100	100	<LOD–0.12	0.056–0.29	0.028–0.077
FOSA	100	95	100	0.0036–0.12	<LOD–0.057	0.023–0.065
5:3 FTCA	13	70	75	<LOD–0.086	<LOD–0.19	<LOD–0.24
7:3 FTCA	75	100	100	<LOD–0.34	<LOD–1.0	0.033–0.37

With an average contribution of ~ 35 % of ΣPFAA (range: 17–51 %), PFOS was the predominant PFAA in nearly all fish muscle samples. It was followed by PFUnDA (~ 20 % of ΣPFAA), PFTTrDA (~ 12 %), PFDA (~ 11 %), PFDODA (~ 10 %), and PFNA (~ 7 %). Little or no significant difference in ΣPFAA could be detected among sampling years (one-way ANOVA, $p = 0.048$). In the case of fluorotelomer carboxylates (FTCAs), larger inter-individual variations were observed after the AFFF spill. For instance, the contribution of 7:3 FTCA to the sum of model PFASs represented only 2.8 ± 2.2 % in 2011 archived samples, but no less than 8.2 ± 7.6 % in 2013 (range: 0.32–33 %) and 7.2 ± 5.3 % in 2014 (range: 1.3–13 %). Although 7:3 FTCA was not described among the major PFASs found in new AFFF formulations, it could result from abiotically- or biotically-induced degradation of polyfluoroalkyl precursors present in the AFFFs spilled at the Lac-Mégantic site [48] (see also **Section 3.2**). The occurrence of 7:3 FTCA in archived fish samples from 2011 may be linked to sources other

than AFFFs (e.g., atmospheric deposition of 8:2 fluorotelomer alcohol and subsequent degradation) [44,49].

3.2. Spatio-temporal trends of newly-identified PFASs in fish and sediments

None of the 7 model cationic/zwitterionic PFASs were found in fish or sediment samples from the present survey. In addition to model PFASs, suspect screening in full scan MS mode was conducted on 23 families of infrequently reported anionic, cationic and zwitterionic PFASs, based on the previously published literature [22,23,25,50,51] (see Fig.S3 of the SI for detailed chemical structures). It is germane to note that perfluorocyclohexane sulfonates (PFMeCHS, PFECCHS) were not detected in any of the samples from the present survey, contrasting with reports for lake trout in the Great Lakes [50]. PFMeCHS and PFECCHS are anti-erosion additives for aircraft hydraulic fluids and have not been reported in AFFF compositions; this further substantiates the lack of detectable levels in the Chaudière watershed. Interestingly, the 8 families of PFAS suspects identified in the present study all belonged to the polyfluoroalkyl class, while none of the perfluoroalkyl surfactants investigated were detected. This indicates that the suspects identified in the present study were from telomerization-based AFFFs [22]. Other unknown perfluoroalkyl compounds not included in the current suspect list may also have been disseminated, based on the mention of a perfluoroalkyl polymer in the composition of the Unifoam firefighting agent (SI Table S1).

A summary of the detection frequencies and concentration ranges of infrequently reported PFASs is provided in Table 2. Fluorotelomer betaines (FTBs) and fluorotelomer sulfonamide betaines (FTABs) were particularly prevalent following the AFFF spill. These compounds were not detected in any of the procedural blanks, nor were they observable in archived 2011 fish samples from the Lake Mégantic. A suite of FTBs of nominal m/z 514, 614, 714 and 814 emerged post-accident, corresponding to the 7:3, 9:3, 11:3 and 13:3 FTB homologues (SI Fig.S4). The delay of ~ 0.9 min observed between successive retention times (RT) is consistent with a $-CF_2CF_2$ spacer, and the deviation from nominal mass remained between -1.1 and +0.33 ppm (SI Table S11). In a similar fashion, FTBs of nominal m/z 532, 632, 732 and 832 were identified (SI Fig.S4), the 18 m/z mass difference with the aforementioned homologues indicating a supplemental carbon-fluorine linkage next to the perfluoroalkyl chain (7:1:2, 9:1:2, 11:1:2 and 13:1:2 FTB) [22]. The fluorotelomer structure of the $n:3$ and $n:1:2$ FTBs differ from other telomerization-based PFASs that typically follow an $n:2$ pattern; they are thus the hallmark of specific AFFF manufacturers [22,23]. The Orbitrap t-MS² positive ionization mode provided further structural confirmation, with two major fragmentation ions for FTBs: loss of 60 m/z to form fragment 1 (Mc Lafferty rearrangement), or cleavage of the C–N bond prior to the betaine structure to yield an m/z 104 fragment. In the specific case of FTABs, loss of the betaine group followed by ethylene loss produced a third characteristic fragmentation ion [23]. An illustration of the full scan MS and t-MS² chromatograms observed for 10:2 FTAB and 9:1:2 FTB is provided in the supplemental material (SI Fig.S5-S6).

Table 2. Detection frequency and concentration range (min–max) of PFAS suspects in adult white sucker samples from the Lake Mégantic and Chaudière River, arranged according to sampling year. Estimated concentrations are expressed in ng g⁻¹ wet weight (ww) (muscle) and were blank-corrected when applicable.

	Type*	Detection Frequency (%)			Concentration Range (ng g ⁻¹ ww)		
		2011 (n = 8)	2013 (n = 20)	2014 (n = 8)	2011 (n = 8)	2013 (n = 20)	2014 (n = 8)
Anionic PFASs							
9:3 FTCA	Qn	100	100	100	0.089–0.13	0.050–0.66	0.10–0.51
8:2 FTSA	Qn	25	100	100	<LOD–0.025	0.010–3.6	0.28–0.74
10:2 FTSA	Qn	0	90	100	<LOD	<LOD–4.2	0.73–2.1
10:2 FTSAS	QI	0	20	0	<LOD	<LOD–0.13	<LOD
10:2 FTSAS sulfoxide	QI	0	20	0	<LOD	<LOD–0.32	<LOD
8:2 FOSA	Sq	12	55	50	<LOD–0.0083	<LOD–0.027	<LOD–0.017
10:2 FOSA	Sq	0	60	100	<LOD	<LOD–0.032	0.003–0.015
Cationic PFASs							
8:2 FTSHA	QI	0	10	0	<LOD	<LOD–0.079	<LOD
6:2-M ₁ (6:2 FTA)	Sq	0	10	0	<LOD	<LOD–0.014	<LOD
8:2-M ₁ (8:2 FTA)	Sq	0	30	0	<LOD	<LOD–0.091	<LOD
10:2-M ₁ (10:2 FTA)	Sq	0	5	0	<LOD	<LOD–0.0080	<LOD
8:2-M ₂	Sq	0	40	0	<LOD	<LOD–0.024	<LOD
Zwitterionic PFASs							
8:2 FTAB	Sq	0	80	75	<LOD	<LOD–0.66	<LOD–0.029
10:2 FTAB	Sq	0	70	100	<LOD	<LOD–3.65	0.087–0.32
7:3 FTB	QI	0	30	0	<LOD	<LOD–0.55	<LOD
9:3 FTB	QI	0	80	50	<LOD	<LOD–4.9	<LOD–0.13
11:3 FTB	QI	0	65	63	<LOD	<LOD–3.0	<LOD–0.13
7:1:2 FTB	QI	0	85	12.5	<LOD	<LOD–5.3	<LOD–0.019
9:1:2 FTB	QI	0	85	100	<LOD	<LOD–34	0.45–1.3
11:1:2 FTB	QI	0	70	100	<LOD	<LOD–12	0.38–0.70
13:1:2 FTB	QI	0	10	0	<LOD	<LOD–0.027	<LOD

*Type: confidence in quantitation: Indicative (QI), semi-quantitative (Sq), or quantitative (Qn) (rationale provided in pages 660–661 of the SI).

Other infrequently reported PFAS families identified post-accident included fluorotelomer sulfonamido amines (FTAs), fluorotelomer thiohydroxyammonium (FTSHAs), fluorotelomer thioether amido sulfonates (FTSASs), fluorotelomer sulfoxide amido sulfonates (FTSAS-sulfoxide), and fluorotelomer sulfonates (FTSAs) (see SI **Table S11** for full details on retention time and deviation from nominal mass). According to the literature [22,23] and based on the list of firefighting agents used at Lac-Mégantic accident site (SI **Table S1**), the FTSAS-related compounds could be possibly related to Ansul or Chemguard AFFFs, FTSHAs and FTBs to Ansul AFFFs, and FTABs to National Foam AFFF.

Close to the accident site (KP-0.6), estimated concentrations of 9:1:2 FTB in adult white sucker samples peaked at $33 \pm 1.2 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$ in samples from July 2013 ($n = 3$), as did those of 7:1:2 FTB, 9:3 FTB or 11:1:2 FTB (range: $2.8\text{--}5.3 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$) (**Fig.2**). Interestingly, in samples collected in the Chaudière River 92 km further downstream (July 2013), FTBs could also be detected, albeit at lower concentrations than those from KP-0.6 ($\sim 1/4^{\text{th}}$ to $1/20^{\text{th}}$). Inter-individual variations of FTB levels were very consistent within an area at a given sampling period (e.g., $\text{RSD} < 4\text{--}29 \%$ for KP-0.6 in July 2013). FTB levels declined markedly in the following months ($\sim 98 \%$ decrease of 9:1:2 FTB in fish from KP-0.6 between the sampling campaigns of July 2013 and November 2014) (**Fig.2**), indicating that these compounds were only transiently present in fish. Biotransformation and excretion of the resulting metabolites might have occurred following initial uptake; depuration of the parent compound following the decrease in water column concentrations could be also expected. Overall, similar trends were observed for other PFAS suspects, including 8:2 FTAB and 10:2 FTAB (**Fig.2**).

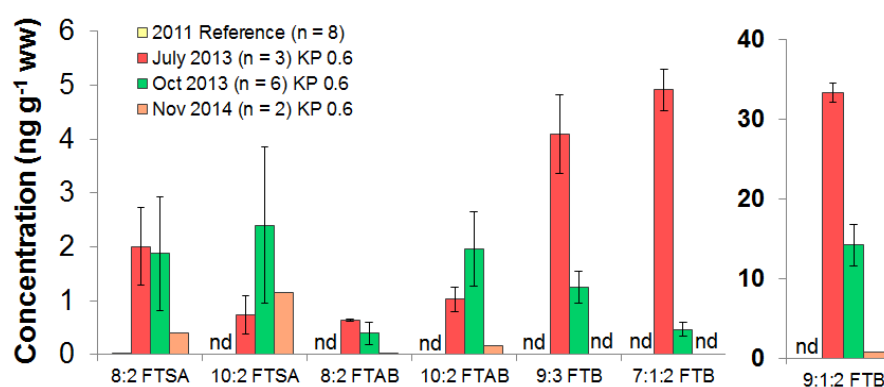


Fig.2. Temporal trends of anionic and zwitterionic polyfluoroalkyl surfactants in adult white sucker from the Chaudière River at sampling location KP-0.6 close to the accident site (“Reference” = 2011 archived fish samples from Lake Mégantic) (FTSA: fluorotelomer sulfonate; FTAB: fluorotelomer sulfonamide betaine; FTB: fluorotelomer betaine). Estimated concentrations are expressed in ng g^{-1} wet weight (muscle). (nd: not detected).

Equally noteworthy, the relative contribution of 8:2 FTSA and 10:2 FTSA to the PFAS profile increased in the following year (2014) (**Fig.2**). It can be speculated that FTSA are more bioavailable than cationic or amphoteric PFASs that would be readily scavenged from the water column and exhibit enhanced sorption to sediments due to ionic interactions; this would also result in lower biota to sediment accumulation factors (BSAFs). Barzen-Hanson et al. [52] observed higher organic carbon sediment-water partition coefficients ($\text{Log } K_{oc}$) for FTABs than for FTSA of equivalent fluorotelomer chain length under controlled laboratory conditions, which seems to corroborate this hypothesis. The relatively high levels of 8:2 FTSA and 10:2 FTSA observed in the present study may also partly reflect the environmental transformation (through photolysis or metabolic reactions) of 8:2 FTAB and 10:2 FTAB [25]. Conclusive evidence to support this was the observation of potential degradation products of FTABs. Through decarboxylation and N-demethylation (or direct deacetylation), $n:2$ FTABs are expected to yield $n:2$ FTAs ($n:2\text{-M}_1$) [25]; 8:2 FTA and 10:2 FTA were indeed observed in fish samples from August-October 2013 (concentration range = $<\text{LOD}\text{--}0.085 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$). Another N-demethylation

yielded n:2-M₂ (SI **Fig.S3**) which was also observed occasionally in 2013 (**Table 2**). Further degradation likely yielded 8:2 and 10:2 fluorotelomer sulfonamides (SI **Fig.S3**) that were recurrently detected post-accident (detection frequency: 50–100 %; concentration range: nd–0.032 ng g⁻¹ ww), in excellent agreement with Moe et al. [25] who observed 6:2 fluorotelomer sulfonamide after exposition of turbot (*Scophthalmus maximus*) to a 6:2 FTAB-based AFFF under controlled laboratory conditions. To the best of our knowledge, this is the first study to report on the environmental occurrence of these compounds. The increase in 7:3 FTCA levels post-accident (mentioned earlier in **Section 3.1**) may be partly explained by the environmental transformation of 8:2 FTAB and 8:2 FTSA. In a similar fashion, 9:3 FTCA concentrations increased from 0.13 ± 0.044 ng g⁻¹ ww in 2011 archived samples to 0.28 ± 0.18 and 0.36 ± 0.13 ng g⁻¹ ww in 2013 and 2014, respectively, a likely consequence of 10:2 FTAB and 10:2 FTSA degradation. In the long run, PFCAs may also be produced, as was recently observed for 6:2 FTAB by D'Agostino and Mabury [53] in a batch biodegradation experiment involving AFFF and aerobic wastewater treatment plant sludge.

The spatial distribution of PFASs levels and composition profiles in sediments is shown in **Fig.3** (see also **Table S10** of the SI).

Close to the accident site (KP-0.6), the total PFAS concentration (ΣPFAS) in the sediment amounted to 11 ng g⁻¹ dw, indicating that the contribution of ΣPFAA (PFCAs + PFSAAs) was negligible (~ 1 %). The composition profile mainly comprised 9:1:2 FTB (28 %), 11:1:2 FTB (23 %), 10:2 FTAB (11 %), 8:2 FTAB (8 %), 6:2 FTSHA (6 %), 9:3 FTB (5 %), and 6:2 FTSHA-sulfoxide (2 %). 8:2 FTSA and 10:2 FTSA were only observed at low levels (0.024 and 0.069 ng g⁻¹ dw, respectively), as were 8:2 FTSHA and 8:2 FTSHA-sulfoxide (0.026 and 0.056 ng g⁻¹ dw, respectively). Overall, sediment samples taken along the Chaudière River and in the Lake Mégantic displayed similar trends, with estimated levels of betaine-based PFASs generally exceeding those of other PFAS families (**Fig.3**). Although the maximum ΣPFAS in the Chaudière River was observed at KP-0.6, no clear upstream/downstream trend was evident, due to the scattering of values from KP-82 to KP-92 (ΣPFAS range = 0.28–3.9 ng g⁻¹ dw) (SI **Fig.S7-a**). However, this dispersion was somewhat alleviated after correcting sediment concentrations for organic carbon content, and the longitudinal gradient became more apparent (SI **Fig.S7-b**).

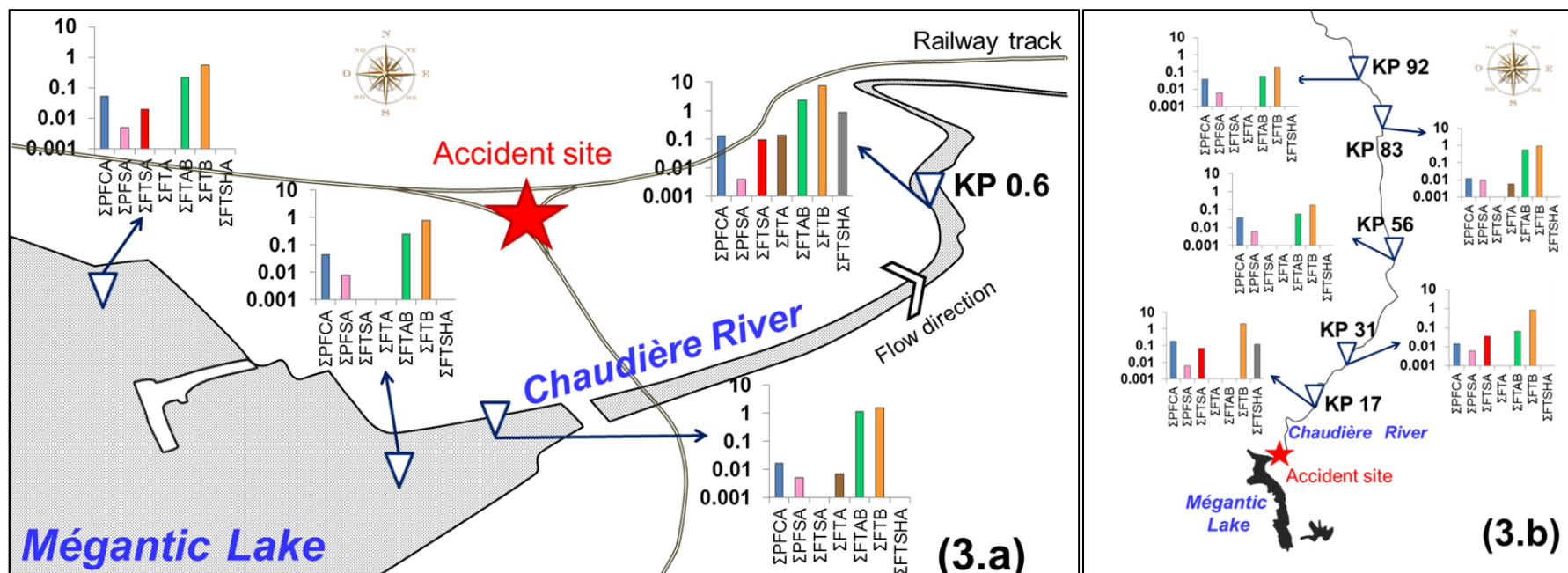


Fig.3. Spatial distribution of legacy and infrequently reported PFASs in 2014 sediment samples close to the accident site (3.a) and along the Chaudière River (3.b). For each sampling site, the total concentration (ng g⁻¹ dw) of a given PFAS family was color-coded as follows: Blue = ΣPFCA (perfluoroalkyl carboxylates), Pink = ΣPFSA (perfluoroalkyl sulfonates), Red = ΣFTSA (fluorotelomer sulfonates), Brown = ΣFTA (fluorotelomer sulfonamide amines), Green = ΣFTAB (fluorotelomer sulfonamide betaines), Orange = ΣFTB (fluorotelomer betaines), Grey = ΣFTSHA (fluorotelomer thiohydroxyammonium (FTSHA) and FTSHA-sulfoxides).

Biota-to-sediment accumulation factors (BSAFs) were estimated as the ratio of the concentration in fish tissue ($\text{ng g}^{-1} \text{ ww}$) to that in the sediment ($\text{ng g}^{-1} \text{ dw}$) at a given sampling location. Mean BSAFs in adult fish from the August–November 2014 sampling campaigns ranged between 0.04–0.38 for betaine-based compounds, much lower than those of legacy PFASs (SI **Table S12**). For betaine-based compounds, BSAFs seemed to increase with perfluoroalkyl chain length (e.g., BSAF = 0.035 for 8:2 FTAB Vs 0.21 for 10:2 FTAB). However, these results should be viewed with caution since non-equilibrium conditions might still be expected (e.g., ongoing degradation/metabolization of residual n:2 FTABs from the 2013 contamination peak). In an attempt to circumvent this, we further estimated BSAFs based on whole body homogenates of juvenile white suckers from the November 2014 sampling campaign (SI **Table S12**). These samples were in all likelihood G0 individuals and presumably did not witness the July 2013 AFFF contamination peak, although seesawing of water and sediment concentrations of newly-identified PFASs might still be expected in 2014 due to their partial resupply during rainfall episodes (e.g., run-off from the impacted area or groundwater seepage). BSAF values decreased exponentially with increasing perfluoroalkyl chain length for PFCAs bearing between 9–13 perfluoroalkyl carbon atoms. The average BSAF of 9:1:2 FTB was 2.7 ± 2.9 , about two orders of magnitude lower than that of PFOS (470 ± 258). The low BSAF of 9:1:2 FTB and the absence of detectable levels of FTABs in juvenile fish altogether suggest that betaine-based compounds are less bioaccumulative than PFAAs for the biological model considered in the present survey.

4. Environmental Implications

The present study investigated the spatio-temporal trends of 28 target and 90 non-target PFASs following a massive release of AFFFs at Lac-Mégantic, Québec. For PFAAs, little or no differences emerged between Lake Mégantic 2011 archived fish samples and those collected downstream from the impacted site in 2013–2014. In particular, PFOS levels remained moderate in white sucker ($< 2.5 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$) and negligible in sediments ($< 0.1 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$), suggesting that the AFFFs deployed to quench the fire at the Lac-Mégantic accident site were not PFOS-based. This seems in good agreement with the fact that importations of PFOS-based AFFFs to Canada ceased in 2002 and remaining stocks are being removed [16].

A series of newly-identified PFASs emerged post-accident, especially amphoteric compounds that were almost-systematically detected and reached estimated levels up to 30-fold those of PFOS. The impact of the AFFF spill was not localized to the sole Lake Mégantic, since elevated levels of FTABs and FTBs could be seen as far as 92 km downstream from the outfall site. Within a few months, levels of FTABs and FTBs decreased substantially in fish samples ($\sim 90\%$ decline) and fluorotelomer sulfonates became more prevalent in the PFAS profile. Several postulated degradation products or metabolites of 8:2 FTAB and 10:2 FTAB were identified, including fluorotelomer sulfonamido amines and fluorotelomer sulfonamides. These findings, together with the low BSAFs measured in 2014 juvenile fish, suggest that fluorotelomer betaine-based PFASs are much less bioaccumulative than medium- or long-chain PFAAs. While 6:2 fluorotelomer anionic (e.g. 6:2 FTSAS), cationic (e.g., 6:2 FTA) and amphoteric (e.g., 6:2 FTAB) surfactants are expected to degrade to short-chain PFCAs (C_4 -

C₇) in the long run [25,46], 8:2 FTAB and 10:2 FTAB may eventually convert to medium or long-chain PFCAs that could be cause for concern for aquatic wildlife [11,12]. Further monitoring of newly-identified PFASs in the Chaudière River watershed is warranted to evaluate their long-term environmental fate.

Acknowledgments

This study was conducted under the aegis of the Quebec *Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques* (MDDELCC). We thank the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERGC), Quebec Research Fund (FRQ) and the Canada Foundation for Innovation (CFI) for their financial support. This work was supported by the Cluster of Excellence COTE (ANR-10-LABX-45) and by the CNRS (EC2CO-Ecodyn program). The Aquitaine Region and the European Regional Development Fund are also acknowledged for their financial support. We acknowledge technical support from Thermo Fisher Scientific. IdEx Bordeaux (ANR-10-IDEX-03-02) provided the mobility and PhD grant allocated to G. Munoz. This project was also supported by the Quebec *Ministère des Relations Internationales et de la Francophonie*, as part of the 63th and 64th Commission Permanente de Coopération Franco-Québécoise (CPCFQ).

REFERENCES

- [1] Moody, C.A., Field, J.A., **2000**. Perfluorinated surfactants and the environmental implications of their use in fire-fighting foams. *Environ. Sci. Technol.*, 34, 3864–3870.
- [2] Tuve, R.L., Jablonski, E.J. Method of extinguishing liquid hydrocarbon fires. U.S. Patent 3,258,423, June 28, **1966**.
- [3] Alm, R.R., Stern, R.M.. Aqueous film-forming foamable solution useful as fire extinguishing concentrate. U.S. Patent 5,085,786, February 4, **1992**.
- [4] Buck, R.C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J.M., Cousins, I.T., De Voogt, P., **2011**. Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: terminology, classification and origins. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 7, 513–541.
- [5] Ahrens, L., Xie, Z., Ebinghaus, R., **2010**. Distribution of perfluoroalkyl compounds in seawater from Northern Europe, Atlantic Ocean, and Southern Ocean. *Chemosphere* 78, 1011–1016.
- [6] González-Gaya, B., Dachs, J., Roscales, J.L., Caballero, G., Jiménez, B., **2014**. Perfluoroalkylated substances in the global tropical and subtropical surface oceans. *Environ. Sci. Technol.* 48, 13076–13084.
- [7] Tomy, G. T., Budakowski, W., Halldorson, T., Helm, P.A., Stern, G.A., Friesen, K. Pepper, K., Tittlemier, S.A., Fisk, A.T., **2004**. Fluorinated organic compounds in an Eastern Arctic marine food web. *Environ. Sci. Technol.* 38, 6475–6481.
- [8] Llorca, M., Farré, M., Tavano, M.S., Alonso, B., Koremblit, G., Barceló, D., **2012**. Fate of a broad spectrum of perfluorinated compounds in soils and biota from Tierra del Fuego and Antarctica. *Environ. Pollut.* 163, 158–166.
- [9] Martin, J.W., Whittle, D.M, Muir, D.C.G., Mabury, S.A., **2004**. Perfluoroalkyl contaminants in a food web from Lake Ontario. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5379–85.
- [10] Houde, M., Bujas, T.D., Small, J., Fair, P., Bossart, G.D., Solomon, K., Muir, D.C.G., **2006**. Biomagnification of perfluoroalkyl compounds in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) food web. *Environ. Sci. Technol.* 40, 4138–4144.
- [11] Buhrke, T., Kibellus, A., Lampen, A., **2013**. In vitro toxicological characterization of perfluorinated carboxylic acids with different carbon chain lengths. *Toxicol. Lett.* 218, 97–104.
- [12] Tartu, S., Gabrielsen, G.W., Blévin, P., Ellis, H., Bustnes, J.O., Herzke, D., Chastel, O., **2014**. Endocrine and fitness correlates of long-chain perfluorinated carboxylates exposure in arctic breeding black-legged kittiwakes. *Environ. Sci. Technol.* 48, 13504–13510.
- [13] Moody, C.A., Field, J.A., **1999**. Determination of perfluorocarboxylates in groundwater impacted by fire-fighting activity. *Environ. Sci. Technol.* 33, 2800–2806.
- [14] Moody, C.A., Martin, J.W., Chi Kwan, W., Muir, D.C.G., Mabury, S.A., **2002**. Monitoring perfluorinated surfactants in biota and surface water samples following an accidental release of fire-fighting foam into Etobicoke Creek. *Environ. Sci. Technol.* 36, 545–551.
- [15] Oakes, K.D., Benskin, J.P., Martin, J.W., Ings, J.S., Heinrichs, J.Y., Dixon, D.G., Servos, M.R., **2010**. Biomonitoring of perfluorochemicals and toxicity to the downstream fish community of Etobicoke Creek following deployment of aqueous film-forming foam. *Aquat. Toxicol.* 98, 120–129.

[16] Awad, E., Zhang, X., Bhavsar, S.P., Petro, S., Crozier, P.W., Reiner, E.J., Fletcher, R., Tittlemier, S.A., Braekevelt, E., **2011**. Long-Term Environmental Fate of Perfluorinated Compounds after Accidental Release at Toronto Airport. *Environ Sci. Technol.* 45, 8081–8089.

[17] De Solla, S.R., De Silva, O., Letcher, R.J., **2012**. Highly Elevated Levels of Perfluorooctane Sulfonate and Other Perfluorinated Acids Found in Biota and Surface Water Downstream of an International Airport, Hamilton, Ontario, Canada. *Environ. Int.* 39, 19–26.

[18] Gewurtz, S.B., Bhavsar, S.P., Petro, S., Mahon, C.G., Zhao, X., Morse, D., Reiner, E.J., Tittlemier, S.A., Braekevelt, E., Drouillard, K., **2014**. High levels of perfluoroalkyl acids in sport fish species downstream of a firefighting training facility at Hamilton International Airport, Ontario, Canada. *Environ. Int.* 67, 1–11.

[19] Ahrens, L., Norström, K., Viktor, T., Cousins, A.P., Josefsson, S., **2015**. Stockholm Arlanda Airport as a source of per- and polyfluoroalkyl substances to water, sediment and fish. *Chemosphere* 129, 33–38.

[20] Loi, E.I.H., Yeung, L.W.Y., Taniyasu, S., Lam, P.K.S., Kannan, K., Yamashita, N., **2011**. Trophic magnification of poly- and perfluorinated compounds in a subtropical food web. *Environ. Sci. Technol.* 45, 5506–5513.

[21] Houtz, E.F., Sedlak, D.L., **2012**. Oxidative conversion as a means of detecting precursors to perfluoroalkyl acids in urban runoff. *Environ. Sci. Technol.* 46, 9342–9349.

[22] Place, B.J., Field, J.A., **2012**. Identification of novel fluorochemicals in aqueous film-forming foams used by the US military. *Environ. Sci. Technol.* 46, 7120–7127.

[23] D'Agostino, L.A., Mabury, S.A., **2014**. Identification of novel fluorinated surfactants in aqueous film forming foams and commercial surfactant concentrates. *Environ. Sci. Technol.* 48, 121–129.

[24] Liu, Y., Dos Santos Pereira, A., Martin, J., **2015**. Discovery of C5 – C17 Poly- and Perfluoroalkyl Substances in Water by In-Line SPE-HPLC-Orbitrap with In-Source Fragmentation Flagging. *Anal. Chem.*, in press.

[25] Moe, M.K., Huber, S., Svenson, J., Hagenaars, A., Pabon, M., Trümper, M., Berger, U., Knapen, D., Herzke, D., **2012**. The structure of the fire fighting foam surfactant Forafac®1157 and its biological and photolytic transformation products. *Chemosphere* 89, 869–875.

[26] Backe, W.J., Day, T.C., Field, J.A., **2013**. Zwitterionic, cationic, and anionic fluorinated chemicals in aqueous film forming foam formulations and groundwater from U.S. military bases by nonaqueous large-volume injection HPLC-MS/MS. *Environ. Sci. Technol.* 47, 5226–5234.

[27] Rotander, A., Kärrman, A., Toms, L.M.L., Kay, M., Mueller, J.F., Gómez Ramos, M.J., **2015**. Novel fluorinated surfactants tentatively identified in firefighters using liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry and a case-control approach. *Environ. Sci. Technol.* 49, 2434–2442.

[28] Ruan, T., Lin, Y., Wang, T., Liu, R., Jiang, G., **2015**. Identification of novel polyfluorinated ether sulfonates as PFOS alternatives in municipal sewage sludge in China. *Environ. Sci. Technol.*, in press (DOI: 10.1021/acs.est.5b01010).

[29] Munoz, G., Vo Duy, S., Labadie, P., Botta, F., Budzinski, H., Lestremay, F., Liu, J., Sauvé, S., **2015**. Analysis of zwitterionic, cationic, neutral and anionic polyfluoroalkyl surfactants in sediments by liquid chromatography polarity-switching electrospray ionization coupled to Orbitrap mass spectrometry. Submitted to *Talanta*.

[30] Transportation Safety Board of Canada (TSB), **2013**. *Railway investigation report R13D0054, Runaway and Main-Track Derailment*. Available online at www.tsb.gc.ca/eng/rapports-reports/rail/2013/r13d0054/r13d0054.asp (accessed 2015-08-21).

[31] Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les Changements Climatiques, **2014**. *Tragédie ferroviaire de Lac-Mégantic – Rapport du Comité expert sur la contamination résiduelle de la rivière Chaudière par les hydrocarbures pétroliers – Constats, Recommandations, Actions proposées*. 40 p. et annexes. Available online at www.mddelcc.gouv.qc.ca/lac-megantic/Rapport-chaudiere.pdf (accessed 2015/09/11).

[32] Dew, W.A., Hontela, A., Rood, S.B., Pyle, G.G., **2015**. Biological effects and toxicity of diluted bitumen and its constituents in freshwater systems. *J. Appl. Toxicol.*, in press (DOI: 10.1002/jat.3196).

[33] ERAP Working Group, **2014**. *Report and Recommendations of the Transportation of Dangerous Goods, General Policy Advisory Council (GPAC), Emergency Response Assistance Plan (ERAP) Working Group, Relating to Class 3 Flammable Liquids*. Available online at www.tc.gc.ca/media/documents/tdg-eng/5807-2014-3477-F-BT8821720-ERAP-WG-Report-and-Recommendations-FINAL-21-en-rev-AAA-rev.pdf (accessed 2015/09/11).

[34] Thibeault, G., **2008**. *Etat de l'écosystème aquatique du bassin versant de la rivière Chaudière : faits saillants 2004–2006*. Québec, Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et des Parcs. Direction de suivi de l'état de l'environnement. ISBN 978-2-550-53173-9, 25p. Available online at www.mddelcc.gouv.qc.ca/eau/bassinversant/bassins/chaudiere/FS-Chaudiere.pdf (accessed 2015/09/11).

[35] Roy, E., Rousselle, J., Lacroix, J., **2003**. Flood damage reduction program (FDRP) in Quebec: case study of the Chaudiere river. *Nat. Haz.* 28, 387–405.

[36] Galvez-Cloutier, R., Guesdon, G., Fonchain, A., **2014**. Lac-Mégantic: analyse de l'urgence environnementale, bilan et évaluation des impacts. *Can. J. Civil. Eng.* 41, 531–539.

[37] Golder Associés, **2014**. *Rapport de caractérisation de la rivière Chaudière*. Rapport présenté au Ministère Développement Durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs. Direction régionale du Centre de contrôle environnemental de la Capitale-Nationale et de la Chaudière-Appalaches, 75p.

[38] Reiner, J.L., O'Connell, S.G., Butt, C.M., Mabury, S.A., Small, J.M., De Silva, A.O., Muir, D.C.G., Delinsky, A.D., Strynar, M.J., Lindstrom, A.B., Reagen, W.K., Malinsky, M., Schäfer, S., Kwadijk, C.J.A.F., Schantz, M.M., Keller, J.M., **2012**. Determination of perfluoroalkyl acid concentrations in biological standard reference materials. *Anal. Bioanal. Chem.* 404, 2683–2692.

[39] Lescord, G.L., Kidd, K.A., De Silva, A.O., Williamson, M., Spencer, C., Wang, X., Muir, D.C.G., **2015**. Perfluorinated and polyfluorinated compounds in lake food webs from the Canadian high arctic. *Environ. Sci. Technol.* 49, 2694–2702.

[40] Benskin, J.P., Ikononou, M.G., Gobas, F.A.P.C., Woudneh, M.B., Cosgrove, J.R., **2012**. Observation of a novel PFOS-precursor, the perfluorooctane sulfonamido ethanol-based phosphate (SAmPAP) diester, in marine sediments. *Environ. Sci. Technol.* 46, 6505–6514.

[41] Labadie, P., Chevreuil, M., **2011**. Partitioning behavior of perfluorinated alkyl contaminants between water, sediment and fish in the Orge River (nearby Paris, France). *Environ. Pollut.* 159, 391–397.

[42] Munoz, G., Giraudel, J.L., Botta, F., Lestremau, F., Dévier, M.H., Budzinski, H., Labadie, P., **2015**. Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: a French nationwide survey. *Sci. Tot. Environ.* 517, 48–56.

[43] Wang, N., Liu, J., Buck, R.C., Korzeniowski, S.H., Wolstenholme, B.W., Folsom, P.W., Sulecki, L.M., **2011**. 6:2 fluorotelomer sulfonate aerobic biotransformation in activated sludge of waste water treatment plants. *Chemosphere* 82, 853–858.

[44] Liu, J., Mejia Avendaño, S., **2013**. Microbial degradation of polyfluoroalkyl chemicals in the environment: A review. *Environ. Int.* 61, 98–114.

[45] Martin, J.W., Mabury, S.A., Solomon, K., Muir, D.C.G., **2003**. Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 196–204.

[46] Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. Available online at eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:32013L0039 (accessed 2015/09/14).

[47] Environment Canada, **2013**. Perfluorooctane Sulfonate in the Canadian Environment. Report no En14-96/2013E-PDF, ISBN 978-1-100-22426-8, 25 p. Available online at www.ec.gc.ca/toxiques-toxics/default.asp?lang=En&n=7331A46C-1 (accessed 2015/09/14).

[48] Yeung, L.W., Mabury, S.A., **2013**. Bioconcentration of Aqueous Film-Forming Foam (AFFF) in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Sci. Technol.*, 47, 12505–12513.

[49] Wang, N., Szostek, B., Buck, R.C., Folsom, P.W., Sulecki, L.M., Gannon, J.T., **2009**. 8-2 fluorotelomer alcohol aerobic soil biodegradation: pathways, metabolites, and metabolite yields. *Chemosphere* 75, 1089–1096.

[50] De Silva, A.O., Spencer, C., Scott, B.F., Backus, S., Muir, D.C.G., **2011**. Detection of a cyclic perfluorinated acid, perfluoroethylcyclohexane sulfonate, in the Great Lakes of North America. *Environ. Sci. Technol.* 45, 8060–8066.

[51] McGuire, M.E., Schaefer, C., Richards, T., Backe, W.J., Field, J.A., Houtz, E., Sedlak, D.L., Guelfo, J.L., Wunsch, A., Higgins, C.P., **2014**. Evidence of Remediation-Induced Alteration of Subsurface Poly- and Perfluoroalkyl Substance Distribution at a Former Firefighter Training Area. *Environ. Sci. Technol.* 48, 6644–6652.

[52] Barzen-Hanson, K., Kleber, K., Field, J.A. Sorption of anionic, zwitterionic and cationic per- and polyfluorinated alkyl substances in soil and sediment. *Fluoros 2015 Conference*.

[53] D'Agostino, L., Mabury, S.A. Wastewater treatment plant sludge biodegradation of two fluorotelomer surfactants found in aqueous film forming foams. *Fluoros 2015 Conference*.

CHAPITRE VII

SYNTHESE DES TRAVAUX

SYNTHESE DES TRAVAUX

Ce chapitre présente un bilan des travaux réalisés au cours de ce doctorat. Dans la majorité des projets auxquels nous avons participé, près d'une vingtaine de composés poly- et perfluoroalkylés (PFAS) étaient ciblés, incluant les principales familles de PFAS historiques tels que les acides perfluoroalkylés (PFAA) et certains de leurs précurseurs potentiels. La première partie de ce travail a consisté à optimiser et valider les méthodologies analytiques mises en œuvre de l'échantillonnage à l'analyse afin de garantir la fiabilité et la traçabilité des résultats générés. L'utilisation de techniques de chimiométrie (construction et réalisation de plans d'expérience, modélisation) a facilité la démarche d'optimisation qui a pu être conduite sur plusieurs paramètres simultanément, réduisant parfois le nombre total d'essais (plans fractionnaires) tout en assurant une couverture adéquate du domaine expérimental. Les méthodes présentées dans ce manuscrit ont été validées en termes de linéarité, d'effet matriciel, de blancs analytiques, de limites de détection et de quantification, de rendement global de préparation, de fidélité et de justesse. Les performances obtenues sont compatibles avec l'analyse ultra-trace des PFAS dans les matrices environnementales. L'analyse d'éléments de contrôle dans le cadre de la démarche de contrôle qualité a permis d'évaluer régulièrement la robustesse et la validité des méthodes lors de leur application aux différentes séries d'échantillons, mais aussi de caractériser la conservation des analytes en amont du démarrage de la procédure analytique au laboratoire. Une discussion portant sur les avantages et limites des méthodes analytiques développées est incluse dans cette synthèse. Au chapitre du traitement et de l'interprétation des données, une attention particulière a été accordée aux valeurs tombant sous le seuil des limites de détection, qui constituent un point épineux dans le domaine de la chimie environnementale.

Une analyse comparée des niveaux et profils de PFAS dans les différentes matrices et environnements étudiés est présentée afin de les situer par rapport au contexte global de contamination. A cet égard, la campagne prospective 2012 de l'ONEMA, couvrant un vaste ensemble de stations d'échantillonnage en France métropolitaine et dans les cinq Départements d'Outre-Mer, a permis de confirmer le caractère ubiquiste des PFAS dans les lacs et rivières à l'échelle nationale, ou encore de mettre en évidence des sites à hauts niveaux de contamination, souvent en lien avec une contamination urbaine et/ou industrielle. Une approche de régression linéaire multiple a permis d'évaluer l'importance relative des facteurs de contrôle de la distribution des PFAS entre colonne d'eau et sédiment, le taux de carbone organique apparaissant comme l'un des facteurs prépondérants. Des éléments de réponse sur la variabilité spatio-temporelle et la dynamique biogéochimique des PFAS ont été apportés en milieu fluvial (la Seine en région parisienne) ainsi qu'à l'interface terre-mer (estuaire de la Gironde), afin d'évaluer leur transport à l'échelle régionale et de contribuer à une meilleure compréhension de leur diffusion à l'échelle globale. Dans le cas de l'estuaire de la Gironde, l'évolution du coefficient de distribution entre la phase dissoute et particulaire (K_D) a été caractérisée temporellement (suivi Pauillac 2012–2013) et spatialement (mission HALOGIR 2014). Par la suite, l'évolution du K_D a été modélisée en fonction de la charge en matières en suspension et de la salinité le long d'un gradient de turbidité/salinité en estuaire de Gironde. Une première cartographie des niveaux de contamination des PFAS dans les sédiments de l'estuaire de la

Gironde a également été réalisée, faisant apparaître les vasières intertidales comme des zones privilégiées de l'accumulation des PFAS, en lien avec le taux de carbone organique du sédiment (dans ce cas fortement corrélé à la granulométrie).

Le transfert des PFAS du milieu aux organismes a été évalué *in situ* avec la caractérisation des facteurs de bioaccumulation et de bioamplification. L'augmentation de la longueur de la chaîne perfluoroalkyle va généralement de pair avec l'augmentation du caractère bioaccumulable de la molécule, à l'exception toutefois des organismes benthiques pour lesquels le facteur de bioaccumulation biote-sédiment (BSAF) est plus élevé pour les PFAA à moyenne longueur de chaîne que pour les PFAA à longue chaîne. Ce phénomène a été observé pour la quasi-totalité des poissons et invertébrés benthiques échantillonnés en estuaire de Gironde, ainsi que pour les meuniers noirs (*Catostomus commersonii*) prélevés dans le bassin versant de la rivière Chaudière au Québec. Les résultats du suivi au niveau du site de Pauillac (Gironde) indiquent que les niveaux de PFAS pour les premiers maillons trophiques de l'estuaire (zooplancton, crevettes) sont relativement stables à l'échelle annuelle. La mise en relation des concentrations de PFAS et du rapport des isotopes stables de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$) pour 147 échantillons biologiques de l'estuaire de Gironde couvrant 18 taxons et près de trois niveaux trophiques, établit pour la première fois en milieu estuarien le caractère bioamplifiable du perfluorooctane sulfonate (PFOS) et des acides perfluoroalkyle carboxyliques (PFCA) à longue chaîne.

Dans une dernière partie, le spectre des molécules recherchées a été élargi à plusieurs familles de PFAS d'intérêt émergent à l'aide de la spectrométrie de masse haute résolution, en mettant l'accent sur les tensioactifs polyfluoroalkylés anioniques, zwitterioniques et cationiques issus des formulations de mousses extinctrices. Une étude exploratoire conduite sur une douzaine d'échantillons de sédiments de la campagne prospective de 2012 en France métropolitaine indique que certains de ces nouveaux composés peuvent être retrouvés à des concentrations élevées, parfois supérieures à celles du PFOS. Dans le bassin versant de la rivière Chaudière (Québec), un suivi temporel de la contamination du meunier noir *C. commersonii* par les PFAS historiques et d'intérêt émergent a été entrepris suite à l'utilisation de 33 000 litres de mousses extinctrices lors de l'accident ferroviaire de Lac-Mégantic du 6 Juillet 2013 (ERAP, 2014 ; MDDELCC, 2014). Les premiers résultats de cette étude semblent dissiper les inquiétudes immédiates quant au caractère bioaccumulable des PFAS d'intérêt émergent de type bétaine. A plus long terme, les métabolites/produits de dégradation de ces composés pourraient cependant être convertis en PFAA.

VII.1. OPTIMISATION ET VALIDATION DES METHODES ANALYTIQUES

En raison de la diversité de propriétés structurales des PFAS étudiés (nature du groupe fonctionnel et longueur de la chaîne perfluoroalkyle), choisir des conditions opérationnelles optimales pour l'ensemble des composés ne représente pas toujours une tâche facile ; les conditions retenues ont donc parfois été sélectionnées sur la base de compromis. L'optimisation a été conduite soit séquentiellement, en considérant un seul paramètre à la fois, soit à l'aide de plans d'expérience permettant de mener de concert l'optimisation de plusieurs paramètres. Lorsque plusieurs valeurs étaient testées pour une variable donnée (ou plusieurs combinaisons de valeurs dans le cas des plans d'expérience), les manipulations ont été effectuées un jour donné et les extraits analysés dans la même séquence afin de se prémunir contre les différences inter-journalières de sensibilité des instruments analytiques (l'optimisation se basant souvent sur l'aire absolue des composés natifs). Au sein d'une même séquence analytique, les différentes conditions ont été analysées de façon aléatoire afin de se prémunir contre des biais systématiques non-contrôlés (facteurs cachés sous-jacents) ; l'analyse régulière de solutions en conditions standard au cours de la séquence d'analyse est un autre moyen de contrôler l'existence de biais éventuels. A titre d'exemple, lors de l'optimisation des paramètres de chargement de la méthode d'analyse des PFAS dans le plasma d'oiseau par SPE en ligne (vitesse de chargement sur la cartouche / volume d'extrait chargé), nous avons choisi un plan factoriel complet 3^2 , ce qui correspond à 2 variables étudiées chacune à 3 niveaux, pour un total de 9 combinaisons. Chaque combinaison, répliquée trois fois, a ensuite été analysée dans un ordre aléatoire (**Tableau 7.1**).

Tableau 7.1. Plan factoriel complet pour l'optimisation du volume d'extrait chargé et de la vitesse de chargement sur la cartouche Oasis HLB en ligne.

Méthode	Ordre de réalisation	Volume d'extrait chargé (μL)	Vitesse de chargement sur la cartouche ($\mu\text{L min}^{-1}$)
M1	1	200	200
M2	6	400	200
M3	8	600	200
M4	4	200	600
M5	3	400	600
M6	5	600	600
M7	9	200	1000
M8	2	400	1000
M9	7	600	1000

L'analyse d'un même échantillon par la méthode M1 en début et fin de séquence a permis de s'assurer de la stabilité du signal (aire absolue A) lors de la réalisation du plan d'expérience pour la majorité des analytes ($80 < A_{\text{fin}}/A_{\text{début}} < 110$ %) (durée de la séquence ~ 8 h). Cependant, pour le N-éthyle perfluorooctane sulfonamide (EtFOSA), une réduction de plus de moitié de l'aire absolue a été constatée entre le début et la fin de séquence ; dans le cas particulier de ce composé, les différences entre les conditions étaient donc affectées par le « temps d'attente » entre analyses successives, facteur caché sous-jacent non initialement pris en compte. L'extrait final contenant près de 90 % d'eau HPLC, il est probable que ce composé hydrophobe soit partiellement perdu par adsorption sur les

parois ou par volatilisation dans l'espace de tête du flacon d'injection. Par conséquent, les résultats de l'EtFOSA n'ont pas été considérés lors du choix final de paramètres communs pour l'ensemble des analytes. Il n'y a en revanche pas lieu de s'interroger quant à un éventuel « effet temps » sur la quantification d'EtFOSA, ce dernier étant associé à son homologue isotopiquement marqué (D_5 -N-EtFOSA) (les étalons internes étant ajoutés aux échantillons dès le début de la procédure analytique). Pour contourner ce problème, les extraits ont été conservés avec un pourcentage maximum de solvant organique (~ 100 %) pour toutes les méthodes à l'exception de la SPE en ligne.

La procédure d'extraction de PFAS des matrices liquides a été développée et optimisée sur le site de Bordeaux (UMR 5805 EPOC, équipe LPTC) antérieurement au démarrage du doctorat, et repose sur le chargement de l'échantillon sur une résine échangeuse d'anion faible (Strata X-AW) qui retient sélectivement les analytes. Dans le cas des matrices solides, l'optimisation de la procédure analytique commence généralement par le choix d'un solvant d'extraction approprié, guidé par trois critères principaux :

- efficacité maximale à extraire les analytes de la matrice ;
- minimisation de la co-extraction d'autres composants de la matrice ;
- compatibilité avec les étapes ultérieures (purification, évaporation, analyse).

Les techniques appliquées pour l'extraction des PFAS des matrices biologiques solides impliquent généralement l'utilisation d'un solvant modérément polaire tel que l'acétonitrile ou le méthanol (MeOH), ce dernier étant fréquemment utilisé en conditions alcalines (NaOH ou KOH) (Valsecchi et al., 2013). La méthode d'extraction assistée par champ micro-ondes (MAE) en système fermé, optimisée et validée sur une matrice de muscle de bar moucheté, a conduit au choix de l'éthanol (EtOH) parmi les quatre solvants testés (eau Milli-Q ; EtOH ; MeOH:eau Milli-Q 50:50 v/v ; MeOH) (Cf. chapitre III.1). Un plan d'expérience fractionnaire a conduit au choix d'une température maximale $T_{max} = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$, d'un volume de solvant $V = 10\text{ mL}$, et d'une durée de maintien à température maximale $D_{T_{max}} = 5\text{ min}$ (temps total de chauffage = 10 min) (Cf. chapitre III.1). L'influence du nombre de cycles d'extraction a également été considérée en quantifiant la quantité récupérée au cours de chaque cycle, avec ajout systématique des étalons internes immédiatement après la filtration des extraits micro-ondes, conduisant au choix d'un unique cycle d'extraction (**Figure 7.1**).

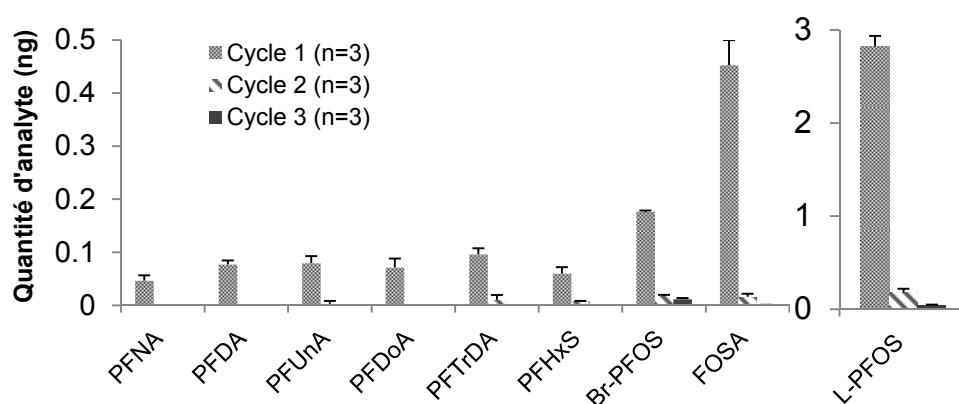
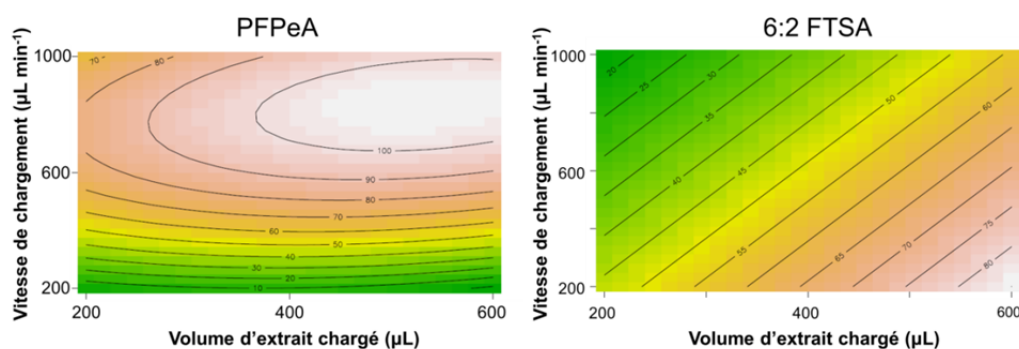


Figure 7.1. Quantité d'analyte récupérée dans chacun des trois cycles micro-ondes successifs (matrice de bar moucheté non dopée ; solvant : EtOH). Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type ($n = 3$).

La méthode d'extraction par MAE de PFAS anioniques et neutres dans les sédiments a été développée et validée à EPOC antérieurement au démarrage de ce doctorat avec le méthanol comme solvant d'extraction et les paramètres suivants : $V = 10 \text{ mL}$; $T_{\text{max}} = 70^\circ\text{C}$; $D_{T_{\text{max}}} = 5 \text{ min}$; nombre de cycles = 1. Appliquée aux échantillons biologiques, cette méthode donne des résultats équivalents à celle développée avec l'éthanol ; en fonction du prix et de la disponibilité des solvants, on pourra donc utiliser indifféremment l'une ou l'autre de ces méthodes d'extraction. Dans le cadre des développements méthodologiques réalisés à l'Université de Montréal (UdeM), nous ne disposons pas d'une source d'énergie micro-ondes pour l'extraction des PFAS des matrices solides. Notre choix s'est donc porté sur une extraction par ultrasons, à partir de la méthode décrite par Bertin et al. (2014). Afin d'élargir la gamme des composés recherchés à des PFAS de polarités variées, l'étape d'extraction a fait l'objet d'une optimisation. Des tests préliminaires ont montré que l'acétonitrile était un solvant inadapté pour les PFAS dans le cas de l'extraction de sédiments par ultrasons, à l'exception des acides perfluoroalkyles sulfoniques (Cf. chapitre **VI.1**). Le méthanol en milieu basique (MeOH contenant 20 mM d'hydroxyde de sodium (NaOH)) a finalement été sélectionné, condition qui permettait d'obtenir des rendements satisfaisants (60–110 %) pour l'ensemble des PFAS anioniques, zwitterioniques et cationiques. L'élaboration de ce choix est discutée en détail au chapitre **VI.1**. Cette méthode d'extraction n'a pas pu être transposée telle quelle à la matrice de muscle de poisson (saponification des corps gras en présence de NaOH), et nous avons préféré utiliser du méthanol contenant 0.1 % d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) comme solvant d'extraction. Dans chacune des deux méthodes, une quantité modérée de solvant (5 mL) est utilisée lors des deux cycles d'extraction par ultrasons (20 min chacun). Une étape de centrifugation après chaque cycle (3 min, 5000 tr min^{-1}) permet de séparer le surnageant de la matrice solide. Dans le cas de la méthode d'extraction de PFAS dans le plasma d'oiseaux marins (chapitre **III.2**), l'influence du pourcentage de solvant organique dans l'extrait final (MeOH ou ACN, 0.1 à 12.5 %) sur la réponse des analytes a été étudiée conjointement avec le volume d'extrait déposé sur la cartouche Oasis HLB en ligne. Le choix de la nature du solvant organique pour la précipitation des protéines (MeOH ou ACN) a ensuite été réalisé en procédant à des extractions comparées de plasmas de différentes espèces d'oiseaux marins. L'étape de SPE en ligne proprement dite a été optimisée en étudiant différentes combinaisons de vitesses de chargement et de volume d'extrait déposé (matrice de plasma de poulet fortifiée) (**Tableau 7.1**). Les surfaces de réponse obtenues pour quelques composés sont présentées en **Figure 7.2**. La méthode finalement retenue est celle située au centre du plan d'expérience, combinant une vitesse de chargement de $600 \mu\text{L min}^{-1}$ et un volume de $400 \mu\text{L}$.



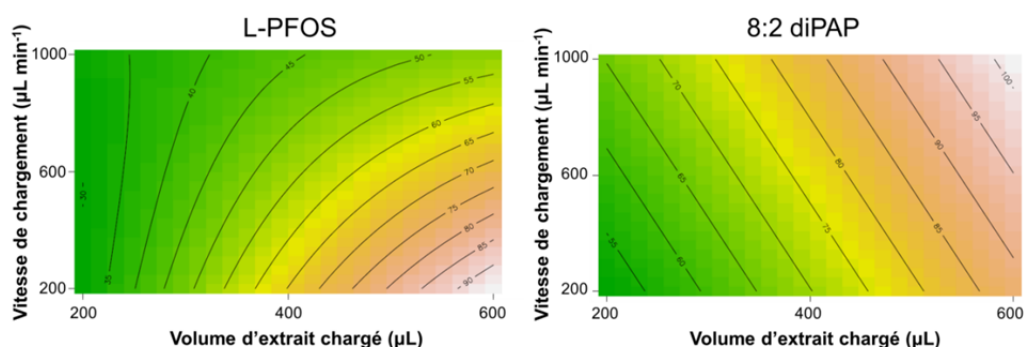


Figure 7.2. Surfaces de réponse générées à partir des résultats du plan d'expérience conduit en SPE en ligne pour l'optimisation simultanée de la vitesse de chargement et du volume d'extrait chargé sur la cartouche Oasis HLB en ligne (**Tableau 7.1**). La réponse relative (pourcentage de l'aire maximale observée pour chaque composé) est modélisée en fonction de la vitesse et du volume à l'aide de modèles du premier ordre ou quadratiques.

L'étape d'extraction est essentielle afin d'assurer la récupération des analytes d'une matrice aqueuse ou leur solubilisation dans un solvant organique ; les extraits organiques peuvent ensuite être partiellement évaporés afin d'atteindre un facteur de concentration suffisant pour assurer la détection des analytes. Par exemple, dans le cas des eaux de surface, le volume d'échantillon aqueux initial de 500 mL est réduit à un volume d'extrait organique de $\sim 0,3$ mL après les étapes de SPE et d'évaporation, soit un facteur de concentration de ~ 1700 . Cependant, pour des matrices complexes, il peut s'avérer avantageux de procéder à une étape de purification après l'extraction proprement dite. Comme il a été mentionné au chapitre II, la technique de désorption thermique par diode laser (LDTD) couplée à l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) et à la spectrométrie de masse peut être sensible aux effets de matrice du fait de l'absence d'étape de séparation chromatographique. Le développement ayant été conduit sur une matrice d'effluent de station d'épuration, prélevée en entrée juste après les dégrilleurs, nous avons pu constater des effets matriciels considérables malgré l'étape d'extraction sur résine échangeuse d'anions faibles (Strata X-AW, 200 mg) et la plus faible prise d'essai que dans le cas des eaux de surface. A un niveau de dopage de 20 ng mL^{-1} dans l'extrait final, les étalons internes du PFHxS et du PFOS ne sont pas détectés avec le protocole Strata X-AW « seul » ; de même, l'examen des aires absolues des perfluoroalkyl carboxylates révèle des signaux de 10 à 30 fois plus faibles par rapport au solvant (**Figure 7.3**). Les autres protocoles testés incluent une étape de lavage avec 5 mL de méthanol avant l'étape d'élution, une purification des extraits avec une cartouche ENVI-Carb graphite (250 mg) (cartouche connectée directement sous la cartouche Strata X-AW au moment de l'élution : protocole « tandem »), ou une combinaison des deux. Si l'amélioration est sensible par rapport au protocole Strata X-AW « seul », l'écart par rapport au solvant n'en demeure pas moins considérable (**Figure 7.3**). Une réduction sensible des effets matriciels « bruts » en LDTD/APCI-Orbitrap-MS a finalement été obtenue en enchaînant une extraction sur cartouche Strata X-AW et une purification des extraits sur des cartouches de charbon de noix de coco contenant une plus grande quantité d'adsorbant (2 g / 6 mL) (Cf. **Table S-6** en Annexes du chapitre

III.3), sans étape de lavage avec le méthanol afin d'éviter la perte des analytes neutres (ex : FOSA) dans la fraction de lavage.

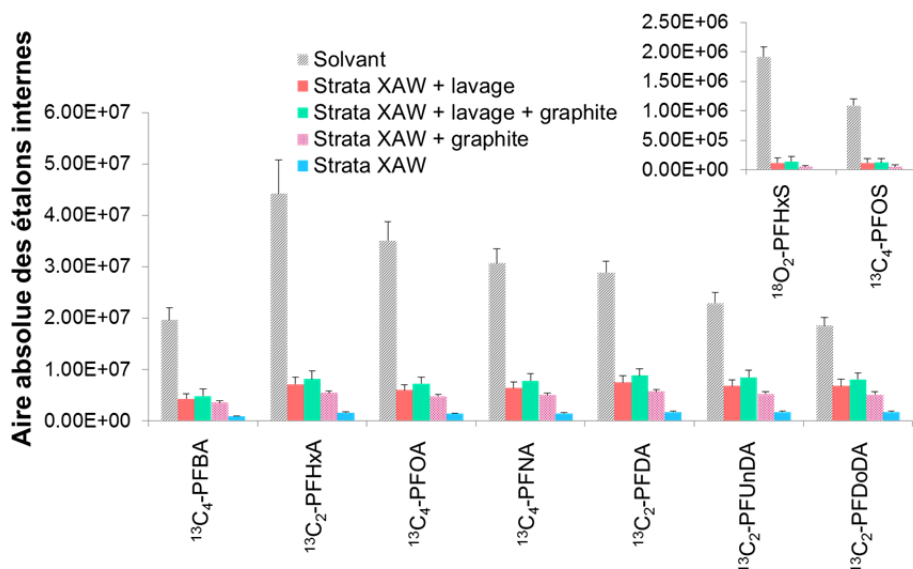


Figure 7.3. Aires absolue des étalons internes ajoutés aux extraits en fin de protocole de préparation après évaporation à sec (reconstitution dans 250 μL d'une solution à 20 ng mL^{-1} dans l'acétate d'éthyle avant analyse par LDTD/APCI-Orbitrap-MS).

Les extractions de PFAS de sédiments (par micro-ondes ou ultrasons) ont systématiquement été suivies d'une concentration des extraits à ~ 2 mL et d'une purification sur ENVI-Carb graphite (250 mg / 6 mL). Pour les matrices biologiques (méthode micro-ondes), trois protocoles de purification ont été testés :

- concentration à ~ 2 mL et purification sur ENVI-Carb graphite (250 mg / 6 mL) ;
- ajout de 200 mg de phase Oasis HLB en batch dans les cellules micro-ondes lors de l'extraction ;
- concentration à $\sim 0,7$ mL et dilution dans ~ 50 mL d'eau Milli-Q avant chargement des extraits sur Strata X-AW, séchage des cartouches, et élution par 2 x 4 mL de MeOH contenant 0,2 % de NH_4OH , les cartouches ENVI-Carb graphite (250 mg / 6 mL) étant directement connectées sous les cartouches Strata X-AW (élution « tandem »).

C'est ce dernier protocole de purification des PFAS qui a été retenu et appliqué pour l'ensemble des matrices biologiques solides traitées dans le cadre de ces travaux de thèse (Cf. chapitre III.1).

Les méthodes d'analyse des PFAS anioniques et neutres par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem décrites dans le cadre de ces travaux sont reprises ou adaptées de méthodes précédemment développées à l'UMR 7619 Sisyphe (Labadie et Chevreuil, 2011a,b) et à EPOC (Bertin et al., 2014). Des ajustements mineurs ont été opérés lors du développement analytique réalisé à l'UdeM pour l'analyse de PFAS anioniques, neutres, cationiques et zwitterioniques (phase mobile contenant 0,1 % d'acide formique) (Cf. chapitre V.1). En théorie, il serait idéal d'avoir une composition d'extrait final identique à celle de la phase mobile au début du gradient analytique en chromatographie liquide (Eau:ACN 90:10 v/v dans notre cas). Cependant, pour

les raisons précédemment évoquées (perte progressive des composés hydrophobes en présence d'eau dans les extraits), nous avons préféré conserver un pourcentage de solvant organique élevé dans l'extrait final (~ 100 % MeOH). Un phénomène de front diffus (facteur d'asymétrie du pic chromatographique < 1) et de perte d'une partie des composés dans le temps mort a été observé pour des volumes d'injection $\geq 10 \mu\text{L}$ pour les analytes éluant les premiers de la colonne (ex : PFBA, PFPeA), et pour des volumes d'injection $\geq 20 \mu\text{L}$ pour les composés plus hydrophobes (ex : PFOS), raisons ayant conduit au choix d'un volume d'injection de $5 \mu\text{L}$ (Cf. chapitre VI.1). A noter que dans les méthodes utilisées à EPOC, un faible volume d'injection a également été choisi ($5 \mu\text{L}$). Dans le cas particulier de la méthode de SPE en ligne, le volume d'extrait déposé sur la cartouche Oasis HLB en ligne a été fixé à $400 \mu\text{L}$ (pourcentage de solvant organique < 12,5 % dans l'extrait final) (Cf. chapitre III.2). L'optimisation des conditions d'analyse en LDTD/APCI-Orbitrap-MS est discutée en détail au chapitre III.3. Après l'étape d'élution, les extraits méthanoliques d'effluents de stations d'épuration sont évaporés à sec et repris par l'acétate d'éthyle, solvant jugé plus performant que le méthanol pour l'analyse des PFAS par LDTD/APCI-Orbitrap-MS (Cf. chapitre III.3). L'optimisation des principaux paramètres LDTD (puissance du laser et débit du gaz vecteur) a été conduite à l'aide d'un plan factoriel complet 3^2 réalisé dans un ordre aléatoire. Les surfaces de réponse générées à partir de ces expériences (**Figure 7.4**) montrent des différences très marquées entre PFAS ; le meilleur compromis a conduit au choix d'une puissance laser de 70 % et d'un débit de gaz vecteur de 2 L min^{-1} (discussion détaillée au chapitre III.3). Ces paramètres ont été utilisés pour l'optimisation du patron laser, puis des paramètres de masse (Cf. chapitre III.3). Un tableau-bilan des méthodes analytiques appliquées dans le cadre de ces travaux de thèse est présenté en page suivante (**Tableau 7.2**).

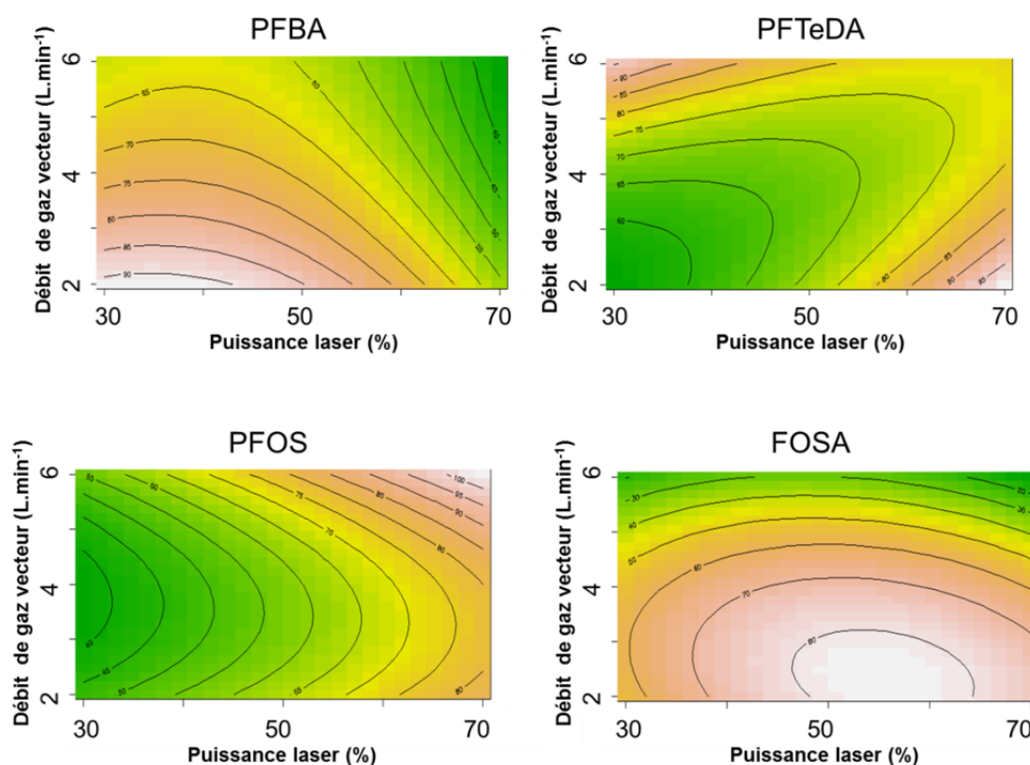


Figure 7.4. Surfaces de réponse générées à partir des résultats du plan d'expérience conduit en LDTD/APCI-Orbitrap-MS pour l'optimisation simultanée de la puissance laser (%) et du débit de gaz vecteur (L min^{-1}). La réponse relative (pourcentage de l'aire maximale observée pour chaque composé) est modélisée en fonction de la puissance et du débit à l'aide de modèles quadratiques.

Tableau 7.2. Caractéristiques des méthodes analytiques décrites dans ces travaux de thèse, ainsi que les principales familles de PFAS ciblées (A : anioniques, N : neutres, C : cationiques, Z : zwitterioniques).

	Matrice	Taille de l'échantillon	Extraction	Purification	Volume d'extrait analysé	Analyse	PFAS ciblés	LOD*	Chapitres concernés
MATRICES AQUEUSES	Eau de surface	0,5 L	Strata X-AW (200 mg)	-	5 µL	LC/ESI-MS/MS	A + N	0,0002–0,3 ng L ⁻¹	IV, V
	Eau souterraine	0,5 L	Strata X-AW (200 mg)	-	5 µL	LC/ESI-MS/MS	A + N	0,01–0,3 ng L ⁻¹	IV.2
	Eau de surface	1 L	Strata X-AW (200 mg)	-	7 µL	LDTD/APCI-Orbitrap-MS	A + N	0,05–1 ng L ⁻¹	III.3
	Effluent de STEP	0,25 L	Strata X-AW (200 mg)	Charbon (2 g)	7 µL	LDTD/APCI-Orbitrap-MS	A + N	0,3–4 ng L ⁻¹	III.3
SEDIMENTS	Sédiment naturel	1 g	Micro-Ondes / MeOH	Graphite (250 mg)	5 µL	LC/ESI-MS/MS	A + N	0,001–0,2 ng g ⁻¹	IV, V
	MES	Variable	Micro-Ondes / MeOH	Graphite (250 mg)	5 µL	LC/ESI-MS/MS	A + N	0,002–0,2 ng g ⁻¹	IV.3, V.2
	Sédiment naturel	1 g	Ultrasons MeOH/NaOH	Graphite (250 mg)	5 µL	LC/ESI-Orbitrap-MS	A + N + C + Z	0,0006–0,5 ng g ⁻¹	VI
MATRICES BIOLOGIQUES	Muscle de poisson	250 mg	Micro-Ondes / EtOH	i) Strata X-AW (200 mg) ii) Graphite (250 mg)	5 µL	LC/ESI-MS/MS	A + N	0,01–0,1 ng g ⁻¹ ww	V
	Muscle de poisson	250 mg	Ultrasons / MeOH/NH ₄ OH	i) Strata X-AW (200 mg) ii) Graphite (250 mg)	5 µL	LC/ESI-Orbitrap-MS	A + N + C + Z	0,001–0,4 ng g ⁻¹ ww	VI
	Plasma	25 µL	ACN	Centrifugation/filtration	400 µL	SPE en ligne couplée à la LC/ESI-MS/MS	A + N	0,003–0,1 ng g ⁻¹	III.2

*LOD : limite de détection (modes de calcul spécifiés au §II.6.b).

Les méthodes analytiques optimisées ont fait l'objet d'une évaluation de leurs performances de linéarité (coefficient de détermination R^2 , gamme de linéarité, résidus), de leurs limites de détection et de quantification, et de leur procédure de préparation et d'analyse (effets matriciels, rendements, fidélité, justesse). Les méthodologies mises en œuvre pour la validation des méthodes sont explicitées au chapitre II (Cf. § II.6) et le détail des performances analytiques précisé au chapitre III. Dans la majorité des cas, les courbes d'étalonnage (entre 5 et 10 points de gamme couvrant de 2 à 3 ordres de grandeur) ont généralement montré des coefficients de détermination (R^2) > 0,995 et des résidus compris entre ± 20 % (différence entre valeur expérimentale et valeur calculée par le modèle de régression). Les limites de détection sont compatibles avec l'analyse ultra-trace des PFAS dans les différentes matrices environnementales étudiées (**Tableau 7.2**). Les rendements, caractérisés sur l'ensemble du protocole (extraction + purification + concentration des extraits), sont généralement compris entre 60 et 110 % avec des coefficients de variation modérés (< 20 %). Des effets matriciels acceptables (généralement compris entre ± 20 %) ont permis de justifier le recours à des courbes de calibration dans le solvant, à l'exception toutefois de la méthode d'analyse par LDTD/APCI-Orbitrap-MS pour laquelle la méthode des ajouts dosés s'est avérée préférable (Cf. § II.5.c et chapitre III.3). L'exactitude, évaluée sur des échantillons fortifiés avec les composés natifs et les étalons internes en début de procédure, est globalement comprise entre 80 et 120 % pour la majorité des analytes. Enfin, la justesse a été évaluée par l'analyse de matrices de référence (muscle de truite NIST SRM 1947) ou certifiées (sérum humain NIST SRM 1957).

Une fois les méthodes validées, des tests de contrôle qualité (blancs de protocole, rendements, exactitude, justesse) traités en parallèle des échantillons ont été régulièrement intégrés dans les projets applicatifs (résultats détaillés en Annexes des chapitres concernés). A titre d'exemple, un bilan des cartes de contrôle pour le PFOS dans les SRM 1947 et 1957 est présenté au chapitre II (Cf. § II.7). En complément, des tests ont été conduits afin de caractériser l'influence des étapes en amont de la procédure analytique (Cf. § II.3), dont voici les principales conclusions :

- les échantillons d'eau de surface non filtrés peuvent être conservés quelques jours à 4°C entre le prélèvement et l'arrivée au laboratoire sans influence notable sur les concentrations de PFAS en phase dissoute ; cependant dès 24 h de stockage les concentrations de PFAS en phase particulaire peuvent sensiblement varier, indiquant que l'étape de filtration doit être opérée le jour même du prélèvement si l'on s'intéresse aux matières en suspension ;
- l'opération de congélation pendant 1 mois des filtrats aqueux semble avoir un impact non-négligeable sur les concentrations de certains PFAS en phase dissoute (de l'ordre de - 30 %) mais ce résultat mériterait d'être confirmé sur un plus grand nombre de réplicats ;
- l'opération de congélation pendant 6 mois est sans effet notable sur les concentrations de PFAS dans la matrice certifiée de sérum humain (NIST SRM 1957).

Pour des raisons logistiques, les échantillons aqueux filtrés ont tous été soumis à congélation pour certains projets, alors que pour les autres ils ont tous été traités frais (sans congélation) ; ainsi, l'artefact éventuellement lié à l'opération de congélation ne devrait pas changer les conclusions générales des études concernées. Le test de stabilité à -20°C de la matrice de sérum humain suggère

l'intégrité des analytes dans les matrices durant les quelques mois de congélation qui séparent la collecte des échantillons de plasma d'oiseaux sur site (Terres Australes et Antarctiques Françaises) et la réception des échantillons au laboratoire du site de Bordeaux (EPOC).

Une discussion des points forts et limites des quatre méthodes optimisées et validées au chapitre III est proposée dans les paragraphes suivants. De manière globale, la sensibilité analytique est excellente et les quantités d'analytes détectées dans les blancs de protocole restent généralement inférieures à quelques dizaines de picogrammes (Cf. § II.7). La robustesse, prérequis indispensable à l'analyse de grandes séries d'échantillons sans détérioration des conditions d'analyse, a pu être vérifiée par la stabilité des courbes de pression en chromatographie liquide (Cf. Annexes du chapitre III.2) ou celle de l'aire absolue des étalons internes au cours des injections successives (**Figure 7.5**).

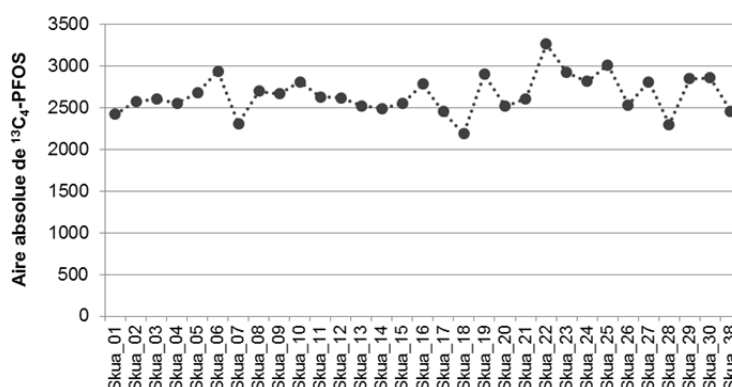


Figure 7.5. Suivi de l'aire absolue de l'étalon interne $^{13}\text{C}_4\text{-PFOS}$ dans les chromatogrammes correspondants aux échantillons de plasma de skua antarctique (*Stercorarius maccormicki*) au cours d'une séquence d'analyse de 31 échantillons de skuas analysés consécutivement (SPE en ligne couplée à la LC/ESI-MS/MS) afin d'examiner les différences inter-échantillons de rendement ou d'effet matriciel qui pourraient éventuellement survenir (volume final des extraits ~ 800 μL).

A notre connaissance, l'extraction assistée par champ micro-ondes (MAE) n'avait pas encore été appliquée à l'analyse des PFAS dans les matrices biologiques solides (chapitre III.1). Cette méthode présente l'avantage d'utiliser un solvant moins toxique (EtOH) que ceux traditionnellement employés pour l'extraction des PFAS (ACN, MeOH). De plus, l'extraction est réalisée en un seul cycle avec une quantité réduite de solvant (10 mL). Des effets matriciels modérés ont été obtenus grâce à l'étape de purification sur Strata X-AW et ENVI-Carb graphite. Parmi les inconvénients, il peut être fait mention de la relative lourdeur de l'étape de purification, ainsi que de son coût (utilisation de deux cartouches jetables par échantillon).

La méthode de détermination des PFAS anioniques et neutres dans le plasma par SPE en ligne couplée à la LC/ESI-MS/MS a permis l'utilisation d'une très faible prise d'essai (25 μL) sans que les limites de détection en soient pour autant impactées par rapport à la littérature (Cf. chapitre III.2). Ceci a été rendu possible par l'injection d'une large fraction d'extrait final (50 %), ce qui présentait comme avantage supplémentaire une très faible consommation d'étalons internes (~ 30 pg par échantillon), un aspect à ne pas négliger étant donné le coût des étalons isotopiquement marqués. Travailler sur une matrice de plasma plutôt que sur le muscle ou les organes renseigne sur la charge

circulante de contaminants et pourra permettre d'évaluer le lien entre niveaux de PFAS et paramètres métaboliques (ex : hormones). La méthode d'échantillonnage étant non-létale, il sera théoriquement possible de suivre les mêmes individus sur plusieurs années. Si des performances adéquates ont été obtenues en termes de limites de détection (3–100 pg g⁻¹) ou de rendement de préparation (46–124 %), il convient de noter d'importants effets matriciels pour 3/26 des composés ciblés. Toutefois, ce dernier point a finalement eu peu d'impact sur l'applicabilité de cette méthode car les 3 composés en question (PFDS, 8:2 diPAP et diSAmPAP) n'ont jamais été détectés dans les échantillons réels. Dans l'éventualité où ces composés seraient détectés dans d'autres études, il pourrait s'avérer avantageux de procéder à la quantification par des courbes de calibration dans la matrice (méthode des ajouts dosés), ou de faire l'acquisition d'étalons internes identiques à ces composés (au marquage isotopique près).

La méthode d'analyse par LDTD/APCI-Orbitrap-MS présentait l'avantage de contourner l'étape de chromatographie liquide, minimisant ainsi la consommation de solvant (phases mobiles), le risque de contamination des blancs instrumentaux par les PFAS (phase mobile, tubulures du système LC), et le temps-machine (20 secondes entre chaque échantillon) (Cf. chapitre **III.3**). L'acquisition étant réalisée sur ~ 9 secondes, la taille des fichiers générés est considérablement réduite par rapport à la méthode LC (4 Mo Vs 200 Mo avec la LDTD/APCI-Orbitrap-MS et la LC/ESI-Orbitrap-MS, respectivement), ce qui se traduit par une plus grande rapidité de retraitement et un encombrement moindre des bases de sauvegarde des données. Si l'analyse instrumentale par LDTD permet un gain de temps conséquent, la préparation de l'échantillon en amont reste malgré tout relativement lourde à mettre en œuvre par rapport à d'autres techniques où ces étapes sont simplifiées (SPE en ligne par exemple). L'eau ne semble pas être un solvant de dépôt adapté pour l'analyse des PFAS par LDTD (limites de détection non compatibles avec les niveaux environnementaux attendus) et la LDTD reste relativement sensible aux effets de matrice, ce qui a rendu indispensable l'étape d'extraction SPE ainsi qu'une purification des extraits. Le recours à des courbes de calibration par ajouts dosés, indispensables dans le cas de matrices complexes (ex : eaux usées brutes ou traitées), pourrait bien être un autre frein à l'application de cette méthode pour des analyses de routine. En raison de sa moindre sensibilité, la méthode décrite dans le chapitre **III.3** devrait donc être réservée à des applications particulières telles que le criblage de sites contaminés. Etant donné les faibles niveaux de PFAS attendus dans les matrices ciblées, la technique de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse par ionisation électrospray (Cf. § **II.5.2**) a généralement été privilégiée dans le cadre des travaux de doctorat décrits dans le présent manuscrit.

La méthode d'analyse par LC/ESI-Orbitrap-MS décrite au chapitre **VI.1** offre des perspectives intéressantes pour la recherche de PFAS de diverses familles dans les sédiments. A notre connaissance, la littérature portant sur l'analyse de PFAS cationiques ou zwitterioniques dans les matrices environnementales est encore très éparse, dû au manque de standards disponibles (Moe et al., 2012 ; Backe et al., 2013). La méthode d'extraction par ultrasons avec le méthanol basique (MeOH contenant 20 mM de NaOH) suivie d'une purification sur ENVI-Carb graphite (250 mg) est relativement peu coûteuse et simple à mettre en œuvre, et permet l'extraction quantitative (rendement

global : 60–110 %) de PFAS de différentes longueurs de chaîne (gamme testée : $n_c = 3$ à 17) et de polarités variées (anioniques, neutres, cationiques et zwitterioniques). Outre la procédure de préparation commune à ces PFAS de diverses natures, l'étape d'analyse instrumentale est également unique, grâce à une source ESI opérée en mode d'inversion rapide de polarité. La phase mobile acidifiée permet une bonne rétention pour l'ensemble des composés, y compris ceux à courte chaîne fluoroalkyle. Si la méthode a été optimisée et validée à partir d'une trentaine de molécules modèles, les chromatogrammes enregistrés permettent de procéder *a posteriori* à la recherche de suspects tombant dans la gamme de masses nominales balayée en mode full scan MS par l'analyseur Orbitrap (150 à 1000 m/z dans notre cas). Les effets matrices sont modérés pour l'ensemble des PFAS anioniques (- 22 à + 17 %) mais apparaissent plus marqués pour les PFAS cationiques/zwitterioniques (-4 à -41 %), sans doute dû à l'emploi d'un étalon interne peu approprié pour ces derniers ($^{13}\text{C}_4$ -PFOS). Les exactitudes occasionnellement faibles (< 50 %) observées pour les PFAS cationiques/zwitterioniques suggèrent également que seules des performances semi-quantitatives seront atteintes pour cette catégorie de composés tant que nous ne disposerons pas d'étalons internes appropriés.

VII.2. TRAITEMENT DE DONNEES

Les méthodes analytiques précédemment décrites ont été appliquées avec pour objectif de répondre à trois grandes problématiques : i) la caractérisation spatio-temporelle des niveaux et profils de PFAS dans des contextes de contamination spécifiques, ii) l'exploration des facteurs biogéochimiques pouvant agir comme facteurs de contrôle de cette contamination, et iii) l'évaluation du potentiel de bioaccumulation et de bioamplification des PFAS en milieu fluvial ou estuarien. Un échantillonnage conséquent a donc été entrepris dans les projets décrits dans les chapitres de résultats (Cf. chapitres **IV**, **V** et **VI**) pour un total oscillant entre 50 et 460 échantillons par projet. La constitution de bases de données de cette ampleur implique alors de pouvoir disposer d'outils de traitement adaptés afin de structurer et synthétiser l'information ou d'en dégager des tendances générales. Dans ce contexte, les représentations cartographiques peuvent être considérées comme plus claires et faciles à comprendre que les tableaux de données, puisqu'elles relèvent du langage visuel. La **Figure 7.6** donne un aperçu des niveaux et profils de PFAS anioniques et neutres dans les sédiments du bassin Rhône-Méditerranée à partir des données de la campagne prospective de 2012. Par rapport à la moyenne nationale, ces sédiments montrent généralement une contribution plus importante des acides perfluoroalkyle carboxyliques (PFCA). Ce phénomène est particulièrement marqué sur le Rhône à l'aval de Lyon (Rhône à Chasse-sur-Rhône) où la contribution des PFCA au profil dépasse les 99 % ($\Sigma\text{PFAS} = 12 \text{ ng g}^{-1}$), ou près de l'embouchure (Rhône à Arles) où elle atteint également près de 90 % ($\Sigma\text{PFAS} = 3,8 \text{ ng g}^{-1}$) (**Figure 7.6**). Outre leur aspect informatif, ces représentations peuvent s'avérer décisives dans la gestion de l'eau et des milieux naturels puisqu'elles peuvent amener les gestionnaires à réexaminer des sites à hauts niveaux de contamination afin d'en élucider les sources ou de proposer des actions correctives.

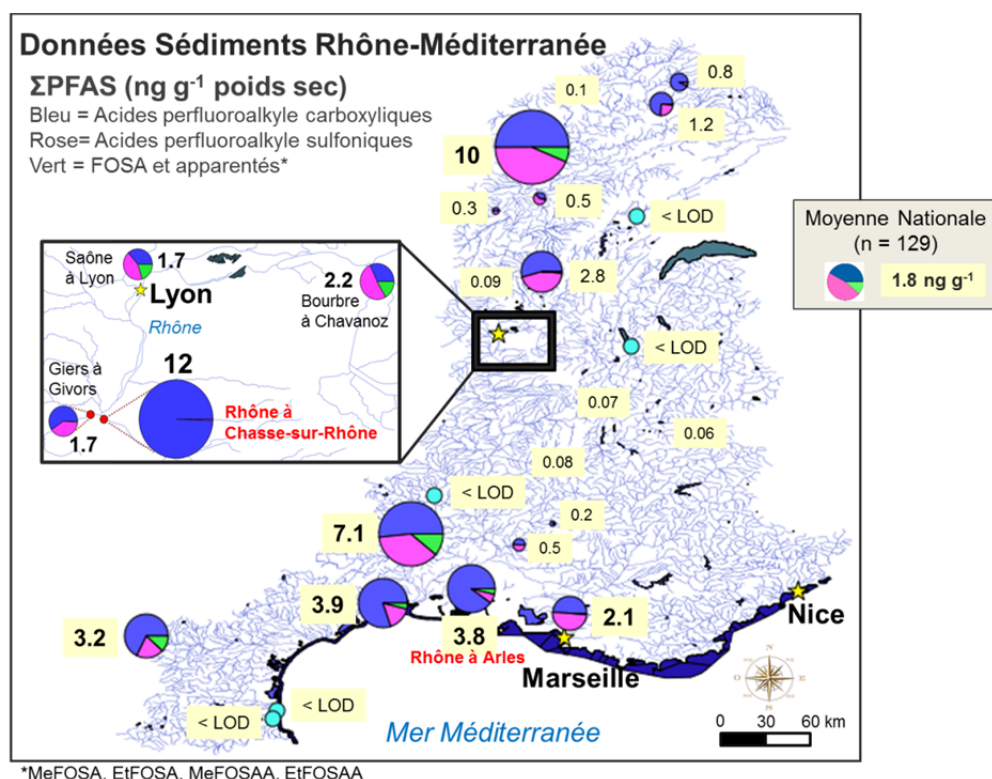


Figure 7.6. Synthèse cartographique de l'information sur les niveaux de PFAS anioniques (Σ PFAS, ng g⁻¹ de poids sec) dans les sédiments collectés dans le bassin Rhône-Méditerranée lors de la campagne prospective de 2012. La composition des camemberts indique la contribution des acides perfluoroalkyle carboxyliques (bleu foncé), des acides perfluoroalkyle sulfoniques (rose), et des autres composés (vert) au profil moléculaire (Σ PFAS). Les stations pour lesquelles aucun composé n'a été détecté sont signalées par la mention « < LOD » accolée à un figuré bleu clair indiquant la localisation du site de prélèvement.

Cependant, il faut garder à l'esprit que lorsque la couverture spatiale est importante et que les campagnes de prélèvement sont répliquées, une cartographie thématique n'est pas forcément la meilleure solution puisqu'elle peut conduire à ne montrer qu'une fraction du jeu de données initial (par souci de lisibilité) ou à lisser les informations (concentrations moyennées par site sur les répliqués des différentes campagnes de prélèvement par exemple). Certains phénomènes peuvent ainsi échapper à la compréhension faute d'une représentation exhaustive de l'information. Dans le cas de la campagne prospective de 2012, étant donné le nombre considérable d'échantillons ciblés en métropole, une solution afin de synthétiser l'intégralité de l'information a été l'utilisation d'une technique d'analyse multivariée non-linéaire (réseaux de neurones, modèle non-supervisé). Le vecteur de sortie se présente sous la forme d'une carte (cartes auto-organisatrices de Kohonen) dont la taille et la forme du réseau sont fixées par l'utilisateur. Dans le cas de la campagne prospective de 2012, nous avons choisi un damier de cellules hexagonales de 8 x 10 cases pour les sédiments (n = 129 échantillons) et de 12 x 15 cases pour la phase dissoute (n = 333 échantillons). L'algorithme se décompose en deux temps : une phase d'ordination puis une phase d'ajustement. La composition virtuelle dans chaque case est initialisée, puis les individus (sites de prélèvement) sont examinés successivement. Le

neurone (ou case/cellule) dont la composition (concentrations en PFAS ou abondances relatives) est la plus proche de l'individu examiné (« stimulus ») est dit neurone « gagnant ». La composition de ce neurone (cellule virtuelle) est alors modifiée en conséquence afin qu'il réponde encore mieux à un stimulus de nature similaire lors des itérations suivantes. A noter que la composition des neurones voisins est également modifiée, dans une moindre mesure. Plusieurs boucles de calcul examinant l'intégralité des individus sont ainsi réalisées. Au cours des itérations, chaque neurone finit par se spécialiser pour représenter une typologie de station bien particulière ; des stations géographiquement distantes peuvent ainsi se retrouver groupées dans la même cellule virtuelle. En fin d'algorithme, la variation des compositions des cellules virtuelles entre 2 itérations devient très faible : lorsque cette variation devient inférieure à un seuil fixé, on considère alors l'apprentissage terminé. Une méthode de hiérarchisation permet de visualiser des ensembles de cellules virtuelles sous forme de clusters (méthode de type k-moyennes). La carte de Kohonen obtenue à partir du jeu de données global phase dissoute (n = 333) de la campagne prospective de 2012 est présentée en page suivante (**Figure 7.7**). L'examen des cartes pour chaque variable (PFAS) permet d'évaluer les tendances par composé à l'échelle de la carte virtuelle (Cf. chapitre **IV.1**). Par exemple, les stations #614 et #631 précédemment évoquées (Rhône à Chasse-sur-Rhône et Rhône à Arles, respectivement) sont regroupées dans le même cluster (rose) deux fois sur trois (1^e et 3^e campagnes de prélèvement), traduisant des niveaux élevés en PFCA à chaîne courte ou moyenne (**Figure 7.7**). Fait à signaler, l'intégralité des stations apparaissant dans ce cluster provient d'ailleurs du bassin Rhône-Méditerranée (série #6XX), confirmant la signature spécifique du bassin du Rhône pour les PFAS (prédominance des PFCA) (Dauchy et al., 2012). L'examen de la carte de Kohonen a également permis de rapprocher les stations #312 (Seine après la confluence avec l'Oise), #207 (Rosselle à Petite Rosselle) et #PE03 (barrage de St Etienne Cantalès) (cluster vert clair) (**Figure 7.7**). Bien qu'appartenant à des ensembles hydrographiques distincts, ces trois sites ont pour point commun des contributions élevées de 6:2 FTSA, potentiellement en lien avec des sources urbaines/industrielles ou avec l'utilisation de mousses anti-incendie spécifiques de type AFFF.

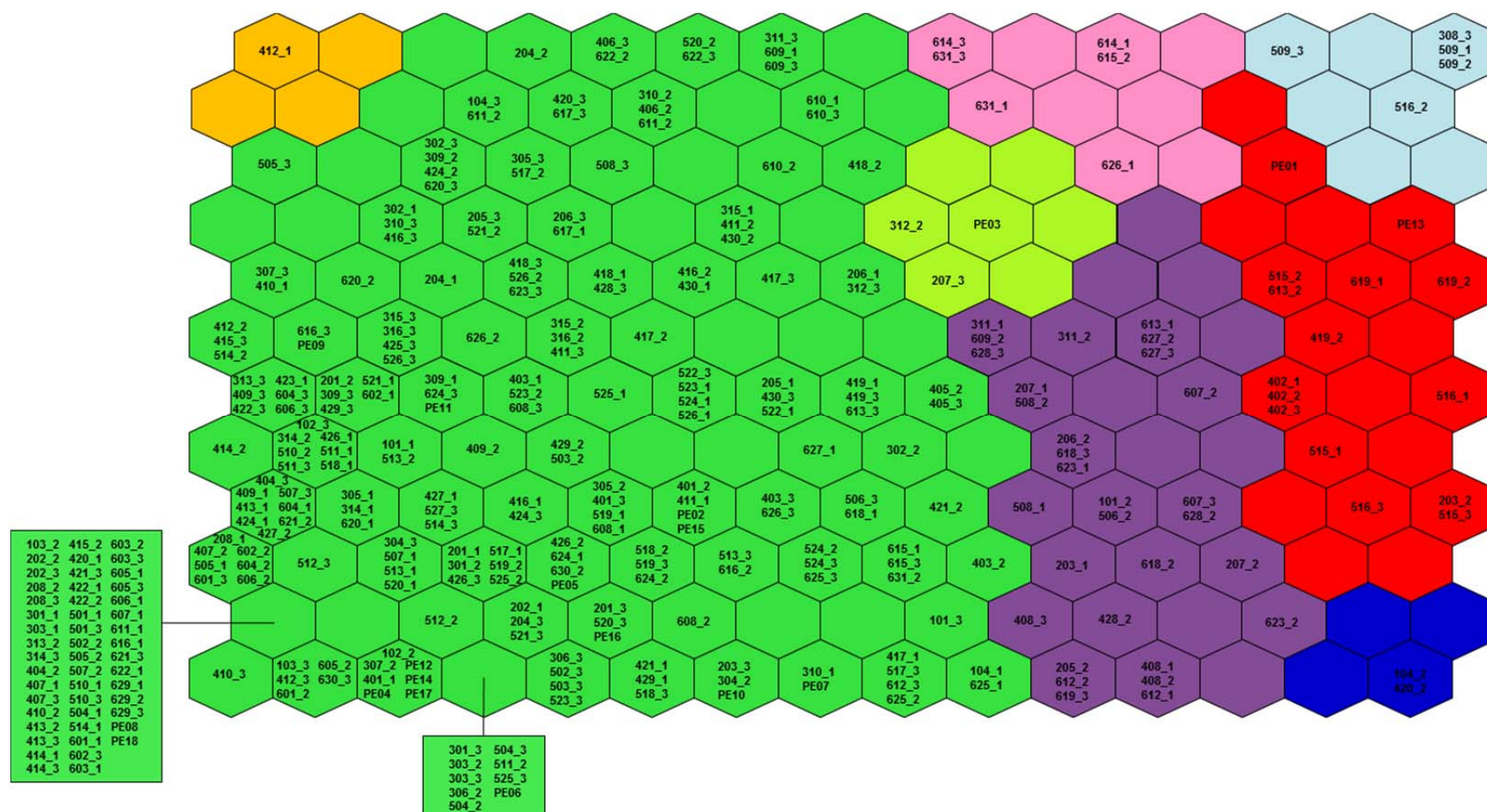


Figure 7.7. Carte auto-organisatrice de Kohonen pour les PFAS (21 composés ciblés) présentant l'intégralité des échantillons de phase dissoute ($n = 333$) de la campagne prospective de 2012 (clusters : méthode des k-moyennes). Pour les fleuves et rivières, le nombre à 3 chiffres correspond au code échantillon (Cf. **Tableau S1** en Annexes du chapitre **IV.1**) et le chiffre après le tiret-bas correspond au numéro de la campagne de prélèvement (n°1 : Avril–Juin 2012, n°2 : Septembre 2012, n°3 : Novembre–Décembre 2012). Les plans d'eau sont indiqués par le codage « PE ».

Un autre aspect important de la synthèse de l'information repose sur l'établissement de statistiques descriptives (telles que moyenne, médiane, écart-type) et d'analyses de corrélations et de régressions. Malgré la sensibilité des méthodes analytiques décrites, il est cependant rare que les composés ciblés soient systématiquement au-dessus de la limite de détection ($>LOD$) dans les échantillons. A noter que la limite de détection tient compte, le cas échéant, de la contamination des blancs de protocole. Mis à part les composés pour lesquels la fréquence de détection serait de 100 %, il existe donc dans les séries de données un certain nombre de résultats censurés ($<LOD$). La question est de savoir comment incorporer ces résultats censurés dans l'analyse des données. Une pratique courante consiste à remplacer, pour chaque composé, l'ensemble des valeurs censurées par une fraction f de la limite de détection (habituellement $\frac{1}{2} \times LOD$). Un argument fréquemment avancé en faveur des techniques de substitution est qu'elles sont simples et peu coûteuses à mettre en œuvre, et qu'elles constituent finalement un moindre mal par rapport à une approche de suppression pure et simple des données censurées. Toutefois, il n'existe aucun fondement théorique à l'utilisation de ces techniques qui peuvent aboutir à de médiocres appréciations des statistiques descriptives et des corrélations (Helsel, 2012). A titre d'exemple, l'application d'une substitution par $\frac{1}{2} \times LOD$ pour les données de la campagne prospective de 2012 ferait conclure à une abondance relative moyenne du PFTeDA de 0,9 % en phase dissoute, résultat aberrant puisque ce composé n'y a jamais été détecté. Dans le cas du projet PFC-Gironde, nous avons pu constater que l'utilisation de techniques de substitution pouvait avoir un impact considérable sur l'estimation du facteur de bioamplification trophique, y compris pour des composés avec des fréquences de détection pourtant élevées. L'exemple du PFUnDA dans le réseau trophique démersal de la Gironde est particulièrement marquant : les TMF augmentent à mesure que l'on diminue la valeur de la fraction f (TMF = 3,7 et 5,2 en procédant à des substitutions par $\frac{1}{2} \times LOD$ et $0,1 \times LOD$, respectivement), malgré une fréquence de détection élevée pour ce composé ($\sim 90\%$).

Des techniques alternatives ont été proposées pour éviter la substitution des résultats $<LOD$ par une valeur arbitraire. Elles reposent sur l'imputation aux données censurées de valeurs calculées par un algorithme à partir de la distribution des valeurs observées, avant l'estimation de statistiques descriptives ou de corrélations. Point important, les nouvelles données générées ne sont généralement pas accessibles à l'utilisateur. En effet, les valeurs imputées pour les résultats censurés ne devraient pas être considérées comme une estimation des valeurs initiales. Par conséquent, aucun consensus clair n'est établi sur le fait d'utiliser ces méthodes en couplage avec des techniques d'analyse multivariées puisque l'on cherche à obtenir une représentation graphique des individus (par exemple, projection des individus dans un espace défini par les composantes principales). Dans le cadre de ces travaux de thèse, des techniques de prise en compte des valeurs censurées ont été mises en œuvre à partir du logiciel R (packages NADA et LMEC), notamment pour le calcul de statistiques descriptives (fonction *cenros*) et pour les analyses de corrélations ou de régressions (fonctions *cenken* ou *lme*). De plus amples informations concernant les fondements théoriques de ces techniques sont notamment disponibles dans les différents travaux d'Helsel (1990, 2005, 2006, 2012). Pour reprendre l'exemple des TMF précédemment cité, l'application de techniques alternatives pour le PFUnDA (*cenken*, *lme*) suggère une absence de biomagnification pour ce composé dans le

réseau démersal, alors que les techniques de substitution testées indiquaient le contraire ($TMF > 1$). En revanche, Borgå et al. (2011) n'avaient pas observé de différences aussi marquées entre les différentes stratégies de traitement des données censurées lors de la détermination de TMF à partir du jeu de données d'Houde et al. (2008). Il apparaît donc difficile de tirer des conclusions générales sur l'impact de la substitution sur la détermination du TMF – il semble que cet impact puisse varier considérablement en fonction des caractéristiques du jeu de données. Si les nouveaux outils de traitement de données censurées fournissent sans doute des statistiques descriptives ou des corrélations plus fiables que les techniques de substitution classiques, il convient cependant de rester prudent : ces techniques sont robustes jusqu'à un certain seuil de censure ($\sim 80\%$ pour *cenros* ou *cenken*) et nécessiteraient en toute rigueur un nombre suffisant d'observations non-censurées afin de pouvoir décrire correctement la distribution des valeurs non-censurées.

VII.3. NIVEAUX ET PROFILS MOLECULAIRES DE PFAS

Cette section vise à établir un bilan des concentrations et profils moléculaires de PFAS dans les différents échantillons environnementaux analysés dans le cadre de ce doctorat. Puisqu'elle ciblait un nombre considérable de sites de prélèvement ($n = 158$) de types variés (référence, mauvais état écologique, pression industrielle, agricole, urbaine) et qu'elle couvrait les principales agences de l'eau en France Métropolitaine et dans les cinq départements d'Outre-Mer (DOM), la campagne prospective de 2012 a permis de dresser un état des lieux de la contamination des eaux de surface (fleuves, rivières, lacs) par les micropolluants organiques à l'échelle nationale. Une étude antérieure (2011) ciblait les eaux souterraines en France Métropolitaine (Lopez et al., 2015) et les eaux souterraines des DOM ont été échantillonnées dans le cadre de la campagne prospective de 2012. Parmi la liste de PFAS ciblés dans les eaux de surface de France Métropolitaine, les composés les plus régulièrement retrouvés en phase dissoute sont les perfluoroalkyle carboxylates à chaîne courte ou moyenne (C_4 – C_{10}), ainsi que le PFBS, le PFHxS et le PFOS (fréquence de détection comprise entre 50 et 89 %). La **Figure 7.8** illustre la dispersion de la somme des PFAS ($\Sigma PFAS$) dans les échantillons d'eau de surface de la campagne prospective de 2012. En France Métropolitaine, la $\Sigma PFAS$ s'échelonne de $< LOD$ à 725 ng L^{-1} , alors que la dispersion des valeurs est plus modérée pour les DOM ($\Sigma PFAS$ maximales $< 80\text{ ng L}^{-1}$) (**Figure 7.8**) (Cf. chapitres **IV.1** et **IV.2**).

En moyenne, la $\Sigma PFAS$ en phase dissoute était de 28 ng L^{-1} pour la France Métropolitaine ($n = 333$), entre 2 et 30 fois celle observée en moyenne dans les DOM, avec 15 ng L^{-1} pour la Guyane ($n = 15$), 10 ng L^{-1} pour la Martinique ($n = 15$), $6,2\text{ ng L}^{-1}$ pour La Réunion ($n = 15$), $2,9\text{ ng L}^{-1}$ pour la Guadeloupe ($n = 15$), et $1,1\text{ ng L}^{-1}$ pour Mayotte ($n = 15$).

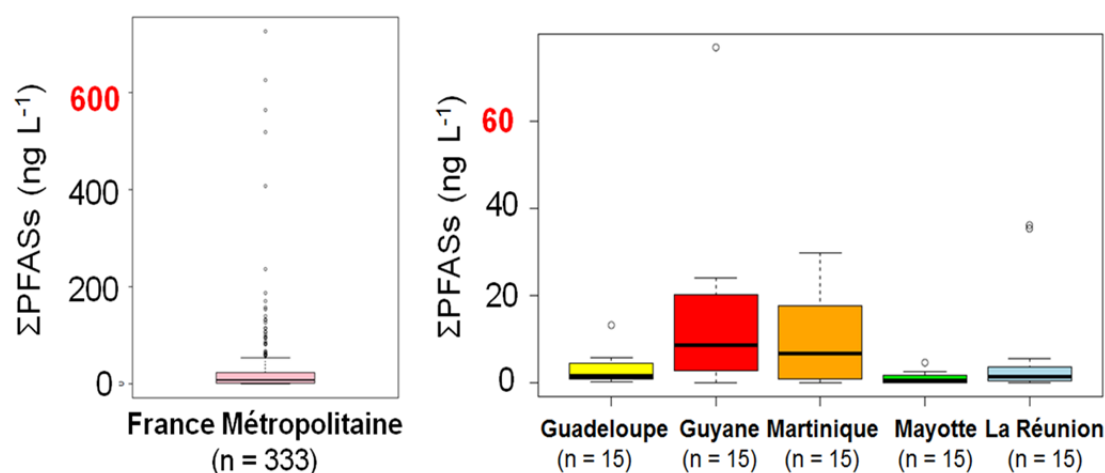


Figure 7.8. Diagrammes à moustaches illustrant la variabilité de la somme de PFAS (Σ PFAS) dans les eaux de surface (phase dissoute, ng L^{-1}) en France métropolitaine et dans les cinq départements d'Outre-Mer (campagne prospective de 2012).

Dix-neuf échantillons d'eau de surface de la campagne prospective de 2012 ont des concentrations de Σ PFAS dépassant la centaine de ng L^{-1} , dont les 2/3 se classent dans les bassins Adour-Garonne ou Rhône-Méditerranée (séries #5XX et #6XX, respectivement) (**Figure 7.9**). Si ces sites partagent des niveaux de PFAS élevés, il existe par contre de grandes disparités en termes de profils moléculaires. Ainsi, la station #516 (L'Aussonnelle à Seilh) en aval de l'aéroport de Blagnac (Toulouse) présente des contributions en acides perfluoroalkyle sulfoniques particulièrement élevées (entre 16–23 % et 38–42 % pour le PFHxS et le PFOS, respectivement). Une domination similaire du PFHxS et du PFOS est observée pour la station #509 (ruisseau La Légère) (Deux-Sèvres) (**Figure 7.9**). Les stations de Rhône-Méditerranée telles que #615 (le Lez à Lattes, ~ 3 km en aval de la ville de Montpellier) (Hérault) ou #619 (Avène à Saint-Privat-des-Vieux, en périphérie de la ville d'Alès) (Gard) sont caractérisées par une forte contribution des acides perfluoroalkyle carboxyliques (50–90 %) (**Figure 7.9**). La valeur maximale de Σ PFAS observée atteint 725 ng L^{-1} pour la station #308 en région parisienne (Ru d'Ancoeuil à Moisenay) (Seine-et-Marne). Des influences industrielles et/ou urbaines, combinées à de faibles capacités de dilution de ces cours d'eau (débits moyens annuels de $0,5 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, $0,78 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ et $2,7 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ pour les stations #308, #516 et #615, respectivement) (<hydro.eaufrance.fr>), peuvent en partie expliquer les niveaux relativement élevés de PFAS pour ces sites. L'étendue d'eau la plus contaminée parmi celles échantillonnées en France Métropolitaine est un lac artificiel au niveau de la ville de Bordeaux (Gironde) (PE01 ; Σ PFAS = 236 ng L^{-1}). Parmi les sites présentant des Σ PFAS > 100 ng L^{-1} , la station PE03 (Retenue de Saint-Etienne-Cantalès) (Cantal) présente un profil de PFAS atypique avec une contribution majoritaire de 6:2 FTSA (72 %) (**Figure 7.9**).

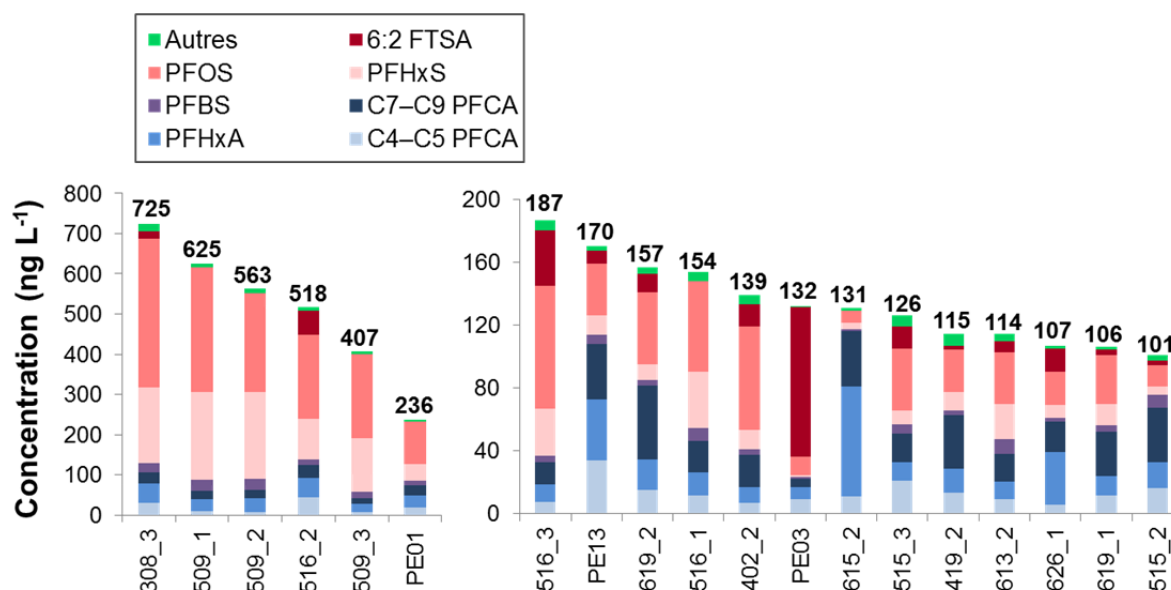


Figure 7.9. Profil de contamination de PFAS en phase dissoute des échantillons de la campagne prospective de 2012 dont la concentration totale de PFAS (Σ PFAS) dépasse 100 ng L^{-1} . « PFOS » désigne le total de l'isomère linéaire (L-PFOS) et des isomères ramifiés (Br-PFOS). La correspondance entre le code de l'échantillon et le nom de la station est indiquée dans le **Tableau S1** en Annexes du chapitre **IV.1**.

Dans l'ensemble, les niveaux de Σ PFAS relevés dans les échantillons d'eaux souterraines ($n = 80$) des DOM sont relativement faibles (Σ PFAS : moyenne = $7,0 \text{ ng L}^{-1}$; médiane = $1,8 \text{ ng L}^{-1}$). Cependant, la campagne prospective de 2012 a permis d'identifier certains points de prélèvement en eaux souterraines caractérisés par de hautes concentrations en PFAS (pour ces sites, Σ PFAS = $45\text{--}638 \text{ ng L}^{-1}$), souvent en lien avec l'urbanisation et/ou des activités industrielles voisines (centrale de production d'électricité, raffinerie) (Cf. chapitre **IV.2**).

La valeur maximale observée pour le PFOS dans les eaux de surface échantillonnées est de 369 ng L^{-1} en région parisienne (#308). En Europe, Loos et al. (2009) ont relevé des niveaux de PFOS élevés dans l'Escaut en Belgique (154 ng L^{-1}) et aux Pays-Bas (110 ng L^{-1}), dans la Severn au Royaume-Uni (238 ng L^{-1}) et la Cherca (Krka) en Slovénie (1371 ng L^{-1}). Lorsque l'on considère le jeu de données global, la moyenne du PFOS dans les eaux de surface avoisine les 10 ng L^{-1} en France Métropolitaine ($n = 333$) (médiane = 2 ng L^{-1}). Ces niveaux de PFOS sont du même ordre de grandeur que ceux rapportés par Loos et al. (2009) dans leur étude couvrant 122 fleuves et rivières à l'échelle européenne (moyenne = 39 ng L^{-1} , médiane = 6 ng L^{-1}). Les niveaux moyens de PFOS observés dans l'estuaire de Gironde au niveau du site de Pauillac (suivi 2012–2013) sont respectivement dix et quarante fois plus faibles que les valeurs moyennes rapportées pour la France Métropolitaine ou l'Europe (Loos et al., 2009) (**Figure 7.10**).

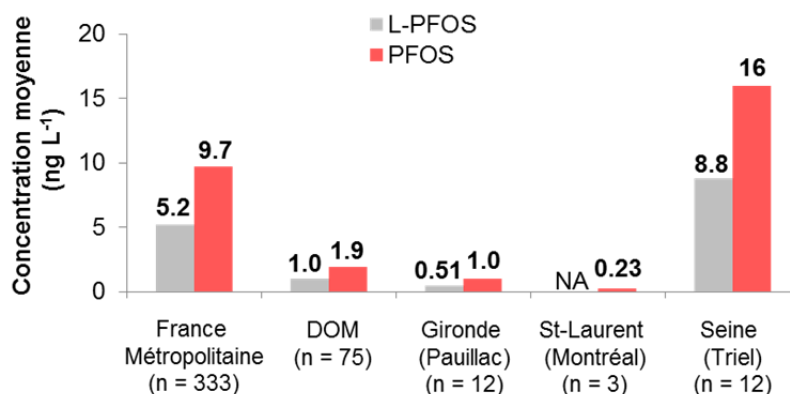


Figure 7.10. Concentration moyenne en phase dissoute (ng L^{-1}) du perfluorooctane sulfonate (PFOS = somme de l'isomère linéaire et des isomères ramifiés) (rouge) et de son isomère linéaire (L-PFOS) (gris) dans les échantillons d'eau de surface à l'étude (NA : non déterminable par LDTD).

En moyenne en France Métropolitaine, le profil moléculaire des PFAS ciblés dans les eaux de surface (phase dissoute) est principalement constitué d'acides perfluoroalkyle carboxyliques à chaîne courte (7 ± 15 , 7 ± 10 et 12 ± 12 % de PFBA, PFPeA et PFHxA, respectivement), de PFOA (13 ± 11 %), de PFHxS (11 ± 9 %) et de PFOS (29 ± 18 %) (Cf. chapitre IV.1). Ce dernier se répartit en proportions équivalentes entre isomères ramifiés et linéaire (~ 48 % pour le L-PFOS), semblable à des observations de Houde et al. (2008) dans le Lac Ontario (Canada). Les profils observés dans les eaux de surface dans les DOM (Cf. chapitre IV.2) ou en Gironde (Cf. chapitres IV.3, V.2 et V.3) concordent avec ceux observés à l'échelle nationale. Les eaux de surface « de référence » sélectionnées dans le cadre de la campagne prospective de 2012 se distinguent des autres types de sites en termes de niveaux, la ΣPFAS restant systématiquement inférieure à $3,7 \text{ ng L}^{-1}$, ainsi qu'en termes de profils (composé majoritaire : PFBA). A noter que dans les eaux souterraines (DOM) ($n = 80$), la proportion de PFAA à chaîne courte (PFBA, PFPeA, PFHxA, PFBS et PFHxS) est généralement supérieure à celle observée dans les eaux de surface, probablement en lien avec la plus grande mobilité de ces composés par rapport à leurs homologues à moyennes et longues chaînes qui présentent une plus grande affinité pour les sols et le sédiment (Cf. chapitre IV.2).

Le L-PFOS et le FOSA sont présents de façon récurrente dans les échantillons de sédiment de France Métropolitaine ($n = 129$) (fréquences de détection de 74 et 67 %, respectivement), ainsi que le Br-PFOS (41 %), les acides perfluoroalkyle carboxyliques du PFNA au PFTeDA (25–47 %), et le MeFOSAA (23 %). En moyenne, la somme des PFAS ciblés s'établit à $1,8 \text{ ng g}^{-1}$ de poids sec dans les sédiments (ΣPFAS médiane : $0,48 \text{ ng g}^{-1}$ de poids sec) (Cf. chapitre IV.1). Les niveaux de L-PFOS varient de $<0,01$ à 17 ng g^{-1} de poids sec, ce qui rejoint les observations de Kwadijk et al. (2010) aux Pays-Bas et de Hloušková et al. (2014) en République Tchèque (L-PFOS = $0,5$ – $8,7$ et $0,2$ – $17,7 \text{ ng g}^{-1}$ de poids sec, respectivement). De manière générale, l'isomère linéaire du PFOS (L-PFOS) est le composé majoritaire du profil moléculaire des PFAS ciblés dans les sédiments de France Métropolitaine (41 ± 30 % de la ΣPFAS), des départements d'Outre-Mer (49 ± 34 %), ainsi que pour les sites échantillonnés en estuaire de Gironde entre le Bec d'Ambès et l'embouchure (28 ± 4 %) ou

dans la Seine à l'amont/aval de Paris (53 ± 12 %) (Cf. chapitres IV.1, IV.2, IV.3 et V.1, respectivement). La contamination de la phase particulaire par les PFAS (MES dans la colonne d'eau) a été évaluée pour l'estuaire de Gironde uniquement (Cf. chapitres IV.3 et V.2). Les niveaux et profils de PFAS dans les MES sont similaires à ceux du sédiment (Cf. chapitre IV.3).

L'estuaire de la Gironde a été le site d'étude principal pour l'examen de la contamination du compartiment biotique par les PFAS. Lors du suivi mensuel à Pauillac (Octobre 2012 à Octobre 2013), nous avons pu observer la relative stabilité des niveaux et profils de PFAS dans le zooplancton et les crevettes à l'échelle d'une année hydrologique (Figure 7.11) (Cf. chapitre V.2).

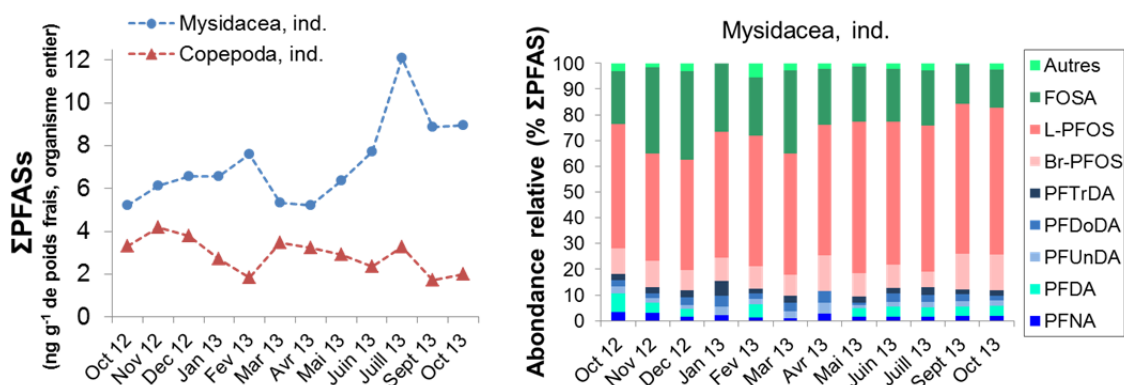


Figure 7.11. Evolution de la somme de PFAS (ng g⁻¹ de poids frais, ramenée à l'organisme entier) pour les mysidacés (*Mysidacea, ind.*) et copépodes (*Copepoda, ind.*) échantillonnés en estuaire de Gironde (gauche) et profil moléculaire observé pour les mysidacés (droite). L'échantillonnage a été conduit au niveau du site de Pauillac selon un pas de temps mensuel (octobre 2012 – octobre 2013).

Par ailleurs, un effort d'échantillonnage conséquent a été conduit afin de caractériser les niveaux de PFAS du réseau trophique de l'estuaire de la Gironde (18 taxons, N = 147 échantillons) (Cf. chapitre V.3). Bien que présents à des niveaux relativement faibles dans la colonne d'eau et les sédiments, les PFAS se sont avérés ubiquistes dans les organismes prélevés en estuaire de Gironde. Sur l'ensemble des échantillons (N = 147), le L-PFOS et le FOSA présentent les fréquences de détection maximales (100 %). Les acides perfluoroalkyle carboxyliques du PFNA au PFTTrDA sont quant à eux détectés presque systématiquement (fréquence de détection = 86–95 %). Concernant la Σ PFAS, les niveaux moyens par taxon s'échelonnent de $0,98 \pm 0,23$ ng g⁻¹ à 31 ± 12 ng g⁻¹ de poids frais dans l'organisme entier (Figure 7.12). La Σ PFAS médiane chez la sole commune (*Solea solea*) s'élève à 20,4 ng g⁻¹ de poids frais dans l'organisme entier, environ le double de celle calculée pour les poissons prédateurs du réseau démersal (bar commun, bar moucheté et maigre). Il convient également de signaler que les teneurs de Σ PFAS chez les juvéniles de poissons de flet et de bar commun sont significativement supérieures à celles relevées chez les individus de plus grande taille, similaire aux tendances observées par exemple chez l'omble chevalier (*Salvenius alpinus*) dans les lacs du grand Nord Canadien (île de Cornwallis, Nunavut) (Lescord et al., 2015). Le polychète endobenthique *Nereis diversicolor* présente des teneurs de Σ PFAS relativement élevées (jusqu'à 45 ng g⁻¹ de poids frais dans l'organisme entier) comparé aux autres invertébrés (Figure 7.12). Ces

résultats concordent avec les observations de Nakata et al. (2006) concernant le ver de vase *Arenicola marina* en mer d'Ariake (sud-ouest de l'archipel nippon). Dans l'ensemble (N=147), le profil moléculaire est dominé par le L-PFOS (46 ± 14 % de Σ PFAS), suivi par le FOSA (17 ± 17 %), le Br-PFOS ($6,2 \pm 3,9$ %) et les acides perfluoroalkyle carboxyliques à moyenne et longue chaîne ($7,6 \pm 9,5$; $6,9 \pm 4,3$; $3,6 \pm 2,9$ et $3,4 \pm 6,1$ % pour le PFNA, le PFDA, le PFUnDA et le PFOA, respectivement). Les profils moléculaires moyens par taxon figurent en annexes du chapitre V.3 (SI pages 613 à 616). Il est à noter que dans le cas particulier des huîtres (*Crassostrea gigas*), le FOSA dominait nettement le profil moléculaire (74 ± 7 % contre seulement 12 ± 7 % pour le L-PFOS). Ces profils sont consistants entre les échantillons prélevés rive droite (Talmont-sur-Gironde) et rive gauche de l'estuaire (Saint-Christoly). Nous relevons d'ailleurs des tendances similaires pour des huîtres prélevées dans les Pertuis Charentais (La Rochelle, Charente-Maritime) (67 % pour le FOSA Vs 33 % pour le PFOS), alors que le FOSA reste légèrement en-dessus du PFOS pour les huîtres prélevées dans le Bassin d'Arcachon (48 % Vs 52 %) (résultats détaillés du programme INTERREG ORQUE-SUDOE présentés en Annexes). Ces profils atypiques de PFAS chez les bivalves filtreurs ont été évoqués dans des études précédentes en estuaires de Seine et de Loire en France (Munsch et al., 2013), ou encore chez la moule verte (*Perna veridis*) le long des côtes chinoises (So et al., 2006).

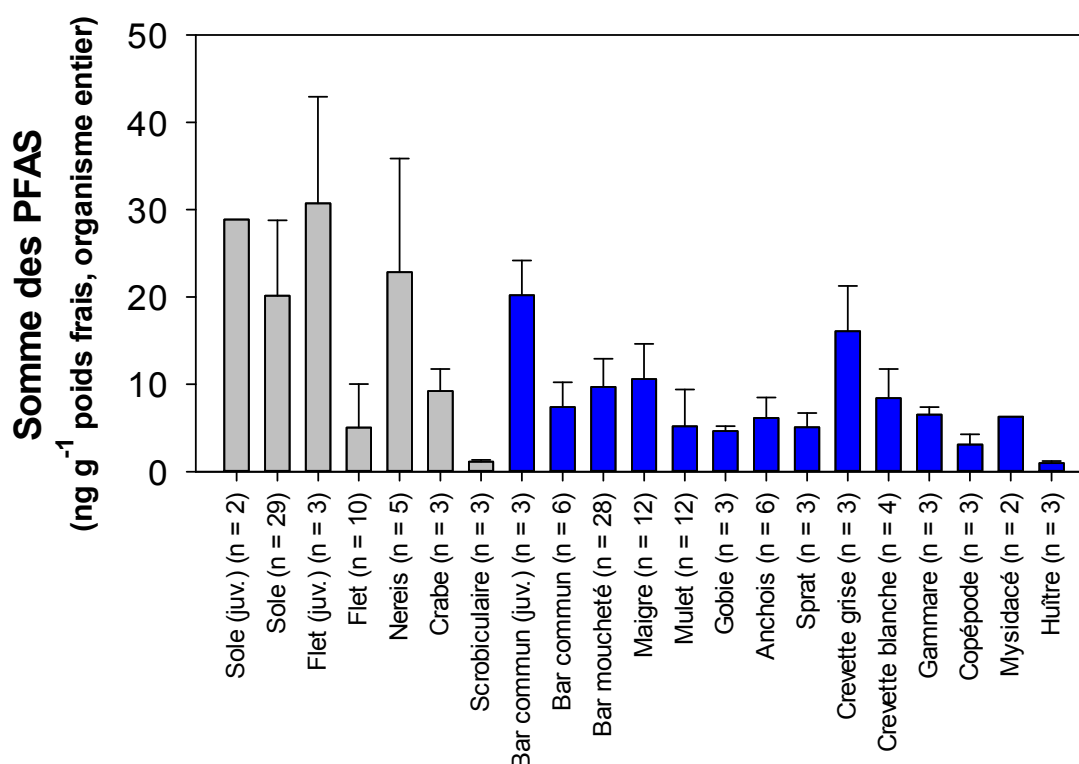


Figure 7.12. Teneurs moyennes de la somme des PFAS (ng g^{-1} de poids frais, ramené à l'organisme entier) pour les différents organismes aquatiques échantillonnés dans l'estuaire de la Gironde entre Mai et Septembre 2012. Pour la sole, le flet et le bar commun, les teneurs observées dans les juvéniles (homogénats de plusieurs poissons pour chaque réplicat) sont indiquées à part (juv.). Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type.

Concernant le PFOS total (L-PFOS + Br-PFOS) dans le filet de poissons, les échantillons présentent des teneurs presque systématiquement inférieures à la limite fixée par l'Union Européenne ($NQE_{biote} = 9,1 \text{ ng g}^{-1}$ de poids frais). La **Figure 7.13** présente une synthèse des teneurs en PFOS observées dans le muscle des échantillons de poissons collectés dans les hydro-systèmes français et québécois considérés.

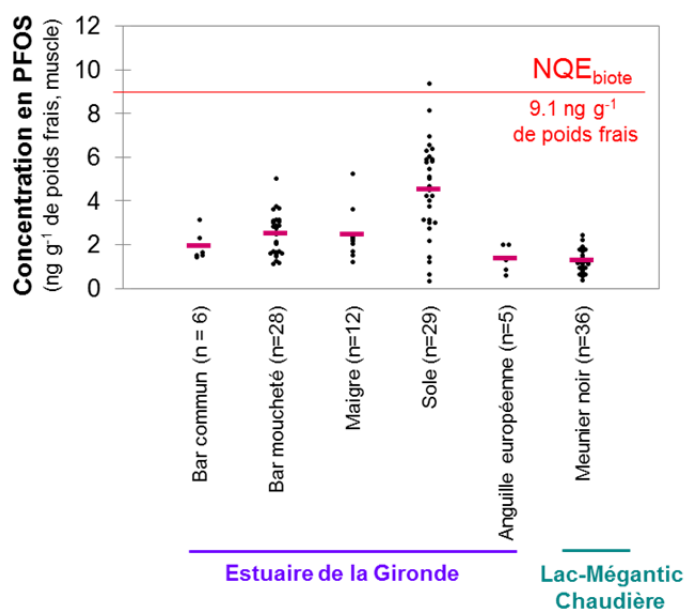


Figure 7.13. Dispersion des teneurs de PFOS total (L-PFOS + Br-PFOS, ng g^{-1} de poids frais) dans le filet de différents poissons collectés en estuaire de Gironde (France) et dans le bassin versant de la rivière Chaudière (Québec). Pour chaque taxon, la moyenne de la série est signalée par un trait de couleur mauve. La ligne rouge représente la norme de qualité environnementale pour l'Union Européenne (NQE_{biote}), fixée à $9,1 \text{ ng g}^{-1}$ de poids frais.

La méthode d'analyse des PFAS dans le plasma par SPE en ligne couplée à la spectrométrie de masse en tandem a été appliquée à une sélection d'oiseaux marins antarctiques (pétrel des neiges *Pagodroma nivea* et skua antarctique *Stercorarius maccormicki*) et subantarctiques (manchot royal *Aptenodytes patagonicus*) (Cf. chapitre III.2). Parmi les onze composés détectés dans ces échantillons ($\Sigma\text{PFAS} = 0,4$ à 19 ng g^{-1} de plasma), le PFUnDA et le L-PFOS sont les principaux congénères du profil de PFAS. Une brève comparaison avec les niveaux documentés dans la littérature est présentée ci-après (**Tableau 7.3**). Bien qu'ayant été prélevés sur un site d'échantillonnage commun (Terre Adélie, Antarctique), les skuas *S. maccormicki* ont montré des teneurs plasmatiques de ΣPFAS entre 1,2 et 51 fois plus élevées que celles des pétrels des neiges *P. nivea*. Il est aussi intéressant de constater les niveaux relativement élevés d'acides perfluoroalkyle carboxyliques à longue chaîne chez le skua antarctique, notamment le PFUnDA et le PFTrDA ($0,84$ – $4,0$ et $0,45$ – $1,9 \text{ ng g}^{-1}$ de plasma, respectivement). Le skua antarctique peut entreprendre de longues migrations à la fin de l'été austral pour rejoindre ses quartiers d'hiver parfois au-delà de l'équateur (Kop et al., 2011 ; Weimerskirch et al., 2015). Il pourrait donc être soumis à une plus forte exposition

aux PFAS que le pétrel des neiges qui reste sous le cercle polaire Antarctique. Des différences de régime alimentaire ou de niveau trophique pourraient également expliquer les différences de concentrations de PFAS entre ces deux espèces (Eklund, 1961 ; Ridoux et Offredo, 1989).

Tableau 7.3. Teneurs de PFOS et de PFUnDA déterminées chez les oiseaux marins antarctiques et subantarctiques dans cette étude et dans la littérature.

Référence	Site	Espèce	Matrice	Gamme de concentrations (ng g ⁻¹ ou ng mL ⁻¹)	
				PFUnDA	PFOS
Tao et al. 2006	Antarctique	Albatros	Foie	-	<0,5–20,7
Tao et al. 2006	Antarctique	Manchot Adélie	Sang	-	<0,1
Tao et al. 2006	Antarctique	Manchot Adélie	Œufs	-	<0,1
Tao et al. 2006	Antarctique	Skua	Sang	-	<0,24–1,36
Tao et al. 2006	Antarctique	Skua	Œufs	-	2,08–3,12
Schiavone et al. 2009	Antarctique	Manchot papou	Œufs	0,1–1,1	0,2–0,4
Schiavone et al. 2009	Antarctique	Manchot Adélie	Œufs	< 2,3–8,8	0,2–0,6
Nash et al. 2010	Antarctique	Pétrel	Muscle	-	1,2
Llorca et al. 2012	Antarctique	Pingouin	Muscle	ND–0,1	0,063–0,10
Cette étude	Antarctique	Pétrel	Plasma	<0,05–0,70	0,22–1,0
Cette étude	Iles Crozet	Manchot royal	Plasma	0,076–0,17	<0,02–0,54
Cette étude	Antarctique	Skua	Plasma	0,84–4,0	1,5–12

VII.4. DYNAMIQUE DES PFAS DANS LE COMPARTIMENT ABIOTIQUE

Du fait de leurs propriétés amphiphiles, l'écodynamique des PFAS anioniques ne peut être prédite à partir des modèles traditionnellement utilisés pour les polluants organiques persistants (par exemple, à partir de descripteurs tel que le coefficient de partage octanol-eau K_{OW}) ; ceci justifie la réalisation d'études empiriques *in situ* ou en conditions contrôlées pour évaluer leur distribution dans les différents compartiments environnementaux. Par ailleurs, la documentation des niveaux de PFAS et leur mise en relation avec leurs facteurs de contrôle potentiels est une étape préliminaire essentielle à l'évaluation de leur transport à l'échelle locale ou régionale.

La dynamique spatio-temporelle des PFAS en phase dissoute a été étudiée dans un milieu fluvial à forte pression urbaine/industrielle, la Seine en région parisienne, et en milieu estuarien relativement peu impacté par les PFAS, l'estuaire de la Gironde. Le programme PIREN-Seine visait à évaluer l'impact de l'agglomération parisienne sur les niveaux et profils de PFAS dans la Seine en conditions hydrologiques contrastées (Cf. chapitre V.1). Le site de Marnay-sur-Seine, situé environ à 200 km en amont de l'agglomération parisienne, a été sélectionné comme site de référence. Le site

de Bougival (40 km à l'aval de Paris-centre) a été choisi afin d'évaluer l'impact de la ville de Paris ; celui de Triel-sur-Seine (80 km à l'aval de Paris-centre) est à l'aval de toutes les sources ponctuelles et diffuses de l'agglomération parisienne (y compris, donc, la station d'épuration de Seine-Aval). A noter que Triel-sur-Seine est également localisé à quelques kilomètres en aval de la confluence avec l'Oise. Les niveaux médians de Σ PFAS en phase dissoute suivent le gradient de contamination attendu : Marnay ($6,3 \text{ ng L}^{-1}$) < Bougival (28 ng L^{-1}) < Triel (50 ng L^{-1}). L'impact de l'agglomération parisienne se ressent également sur la composition du profil moléculaire de PFAS, avec l'augmentation sensible de la proportion de 6:2 FTSA en phase dissoute entre Marnay et Triel ($1,3 \pm 0,9 \%$ et $35 \pm 8 \%$ de Σ PFAS, respectivement) (**Figure 7.14**). Cette variation du 6:2 FTSA en termes de niveaux et de contribution relative au profil de PFAS pourrait être due à des apports urbains ponctuels (stations de traitement des eaux usées) et/ou diffus par ruissellement des eaux contaminées par des formulations de mousses anti-incendie, infiltrations et échanges nappe/rivière (formulations contenant le 6:2 FTSA comme agent tensioactif ou des précurseurs polyfluoroalkylés dont la dégradation peut générer la formation de 6:2 FTSA). Une source industrielle de production de PFAS située dans le bassin de l'Oise pourrait également contribuer au profil particulier de PFAS observé à Triel. Pour chacun des trois sites, la relation entre les niveaux de PFAS en phase dissoute et les débits fluviaux a été examinée. Dans le cas du PFOS par exemple, les concentrations en phase dissoute sont inversement corrélées au débit, ce qui suggère que le PFOS provient essentiellement de sources ponctuelles dans cette zone (**Figure 7.15**). Au niveau des sites en aval, des tendances similaires ont été observées pour les autres PFAS ciblés, ainsi que pour la somme des PFAS. Au niveau du site amont (Marnay-sur-Seine) seuls quelques composés sont inversement corrélés au débit, traduisant des différences en termes de sources. On peut émettre l'hypothèse d'une plus grande importance relative de la contribution des sources diffuses pour Marnay (dépôt atmosphérique par exemple) que dans le cas des deux sites aval où la contribution des sources ponctuelles est sans doute prépondérante. L'estimation du flux de Σ PFAS au niveau de Triel-sur-Seine est d'environ 350 kg an^{-1} , ce qui concorde avec des estimations précédentes au niveau de Paris-centre (Σ PFAS = 485 kg an^{-1}) (Labadie et Chevreuil, 2011b).

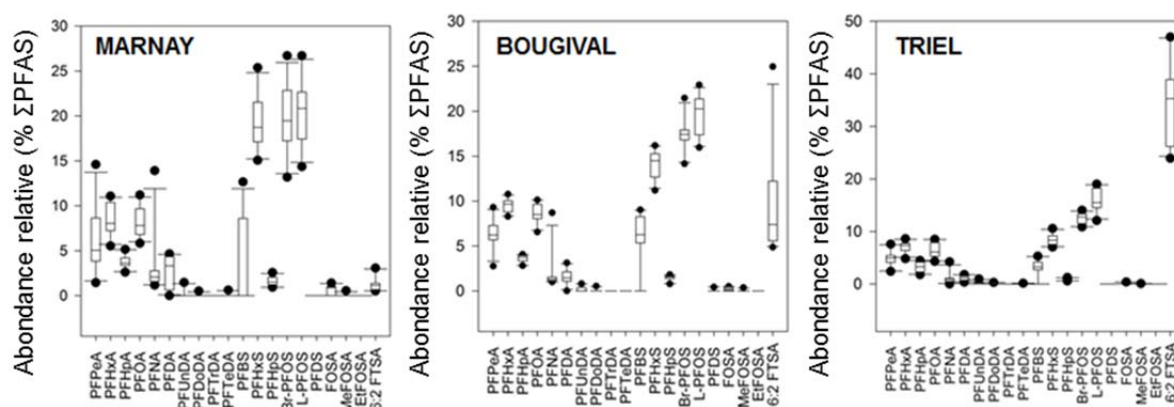


Figure 7.14. Evolution du profil moléculaire de PFAS en phase dissoute à l'amont (Marnay) et à l'aval (Bougival, Triel) de l'agglomération parisienne (n = 12 points par site).

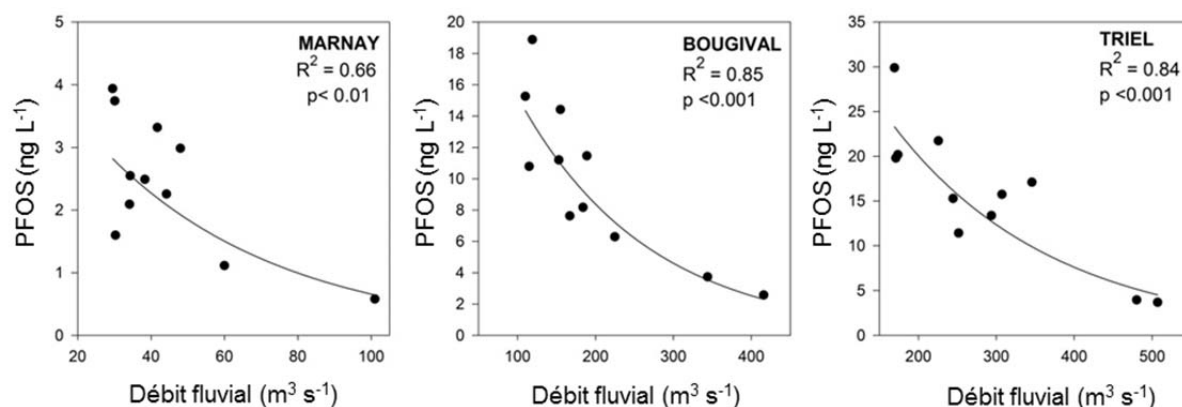


Figure 7.15. Corrélation entre les niveaux de PFOS en phase dissoute (ng L⁻¹) et le débit (m³ s⁻¹) de la Seine à l'amont (Marnay) et à l'aval (Bougival, Triel) de Paris (n = 12 points par site).

Au niveau du site de Pauillac (Gironde), nous n'avons pas observé de corrélation significative entre les niveaux de PFAS en phase dissoute et le débit (Cf. chapitre V.2). A l'inverse, la somme des PFAS apparaît positivement corrélée aux précipitations mensuelles, de même que les concentrations en acides perfluoroalkyle carboxyliques à courte et moyenne longueur de chaîne ; ceci suggère que la contribution des sources diffuses aux niveaux de PFAS pourrait être relativement importante dans l'estuaire de la Gironde. Le long d'un gradient longitudinal, les concentrations dissoutes de PFAS diminuent avec l'augmentation de la salinité, ce qui confirme leur origine fluviale (Cf. chapitre IV.3).

Le coefficient de distribution entre phase dissoute et phase particulaire (K_D) a été évalué dans l'estuaire de la Gironde lors du suivi à Pauillac (octobre 2012 – octobre 2013) et de la campagne HALOGIR (septembre 2014). Pour les raisons précédemment évoquées au chapitre II, la phase particulaire n'a pas été conservée pour l'analyse des PFAS dans le cas de la campagne prospective de 2012 (Cf. § II.3.a). Les coefficients de distribution rapportés à l'échelle nationale (K_D , K_{OC}) correspondent donc à la mise en relation des concentrations de PFAS en phase dissoute et dans les sédiments. Le **Tableau 7.4** propose une synthèse des valeurs de Log K_D et Log K_{OC} déterminées dans le cadre de ces programmes.

Les Log K_D et Log K_{OC} augmentent linéairement avec le nombre d'atomes de carbone perfluoroalkylés pour les acides perfluoroalkyle sulfoniques et carboxyliques. A noter que les composés à chaîne courte (PFBA, PFPeA, PFHxA) semblent échapper à cette tendance, ce qui rejoint les observations de Labadie et Chevreuil (2011a) ou de Guelfo et Higgins (2013). Enfin, l'échantillonnage réalisé mensuellement entre octobre 2012 et octobre 2013 sur un même site (Pauillac, Gironde) dans des conditions normalisées (prélèvement réalisé à marée haute, coefficients de marée de 55 ± 8 en moyenne) suggère la relative stabilité des valeurs de Log K_D et Log K_{OC} durant la période couverte par cette étude (Cf. chapitre V.2).

Tableau 7.4. Synthèse des valeurs de Log K_D (coefficient de distribution eau-sédiment) et Log K_{OC} (coefficient de distribution eau-sédiment corrigé par le taux de carbone organique du sédiment) déterminées dans le cadre de ces travaux de thèse. NA : non disponible.

	Campagne prospective 2012		Suivi Pauillac 2012-2013		Campagne HALOGIR 2014	
	eau/sédiment		eau/MES		eau/MES	
	France Métropolitaine		Pauillac (Gironde)		Estuaire de la Gironde	
	n = 320–324		n = 12		n = 42	
	Log K_D	Log K_{OC}	Log K_D	Log K_{OC}	Log K_D	Log K_{OC}
PFBA	NA	NA	NA	NA	2,5 ± 0,3	4,3 ± 0,3
PFPeA	NA	NA	NA	NA	2,4 ± 0,1	4,2 ± 0,2
PFHxA	NA	NA	NA	NA	2,4 ± 0,1	4,2 ± 0,2
PFHpA	2,2 ± 0,5	3,2 ± 0,4	2,0 ± 0,4	3,7 ± 0,4	2,6 ± 0,2	4,5 ± 0,3
PFOA	1,9 ± 0,6	3,0 ± 0,6	2,4 ± 0,2	4,1 ± 0,2	3,1 ± 0,4	5,0 ± 0,5
PFNA	2,5 ± 0,5	3,6 ± 0,5	2,9 ± 0,2	4,6 ± 0,2	3,5 ± 0,5	5,4 ± 0,5
PFDA	2,6 ± 0,6	3,7 ± 0,6	3,4 ± 0,2	5,1 ± 0,2	3,7 ± 0,1	5,5 ± 0,1
PFUnA	3,0 ± 0,6	4,1 ± 0,6	3,8 ± 0,3	5,4 ± 0,3	3,8 ± 0,1	5,6 ± 0,1
PFDoA	2,7 ± 0,6	3,8 ± 0,6	NA	NA	NA	NA
PFTTrDA	4,1	5,2	NA	NA	NA	NA
PFBS	NA	NA	NA	NA	1,3 ± 0,2	3,2 ± 0,3
PFHxS	1,8 ± 0,6	2,9 ± 0,6	1,9 ± 0,3	3,7 ± 0,3	2,2 ± 0,3	4,1 ± 0,3
PFHpS	2,6 ± 0,3	3,7 ± 0,3	2,6 ± 0,2	4,3 ± 0,3	2,6 ± 0,3	4,5 ± 0,4
Br-PFOS	1,9 ± 0,7	3,0 ± 0,7	3,0 ± 0,3	4,7 ± 0,2	3,3 ± 0,4	5,2 ± 0,5
L-PFOS	2,3 ± 0,8	3,4 ± 0,8	3,4 ± 0,2	5,0 ± 0,2	3,7 ± 0,4	5,6 ± 0,5
FOSA	2,4 ± 0,6	3,5 ± 0,5	3,5 ± 0,2	5,3 ± 0,2	3,4 ± 0,3	5,3 ± 0,3
MeFOSA	NA	NA	NA	NA	2,6	4,5
6:2 FTSA	NA	NA	2,4 ± 0,2	4,0 ± 0,2	3,0 ± 0,5	4,9 ± 0,5

La campagne HALOGIR (2014) a permis d'évaluer la répartition des PFAS dans la colonne d'eau le long d'un gradient de salinité/turbidité dans l'estuaire de la Gironde, de la zone T#1 où commence l'estuaire (PK 25) à la zone T#7 juste avant l'embouchure (PK 85) (**Figure 7.16**). La fraction adsorbée en phase particulaire dans la colonne d'eau (ϕ) augmente à partir du Bec d'Ambès (T#1) (PK 25) jusqu'à la zone T#5 (PK 60), avant de diminuer à nouveau à mesure que l'on se rapproche de l'embouchure (T#6 et T#7) (**Figure 7.17**).

Bien que les PFAS soient relativement hydrosolubles par rapport à d'autres polluants organiques persistants, les fortes teneurs en MES au niveau du bouchon vaseux impliquent que certains des PFAS ciblés soient majoritairement présents en phase particulaire plutôt qu'en phase dissoute dans la colonne d'eau, ϕ pouvant dépasser les 80 % pour certains acides perfluoroalkyle carboxyliques (PFNA, PFDA, PFUnDA), le L-PFOS, et le FOSA (Cf. chapitre **IV.3**). Ces composés ayant été répertoriés comme potentiellement bioaccumulables et toxiques en raison de la longueur de leur chaîne perfluoroalkyle, ces observations suggèrent que l'ingestion de matières en suspension pourrait être une voie d'exposition non-négligeable des organismes aquatiques à ces composés dans un milieu hyper-turbide tel que l'estuaire de la Gironde.

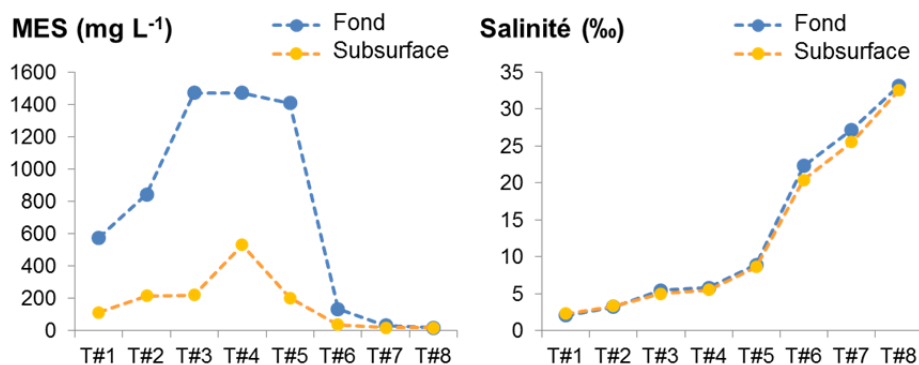


Figure 7.16. Evolution de la charge en matières en suspension (MES, mg L⁻¹) et la salinité (‰) le long d'un gradient longitudinal dans l'estuaire de la Gironde (T#1 à T#7). Une zone située en milieu marin à environ 50 km à l'Ouest de l'embouchure de l'estuaire (vasière Ouest-Gironde) a également été échantillonnée au cours de cette campagne (T#8).

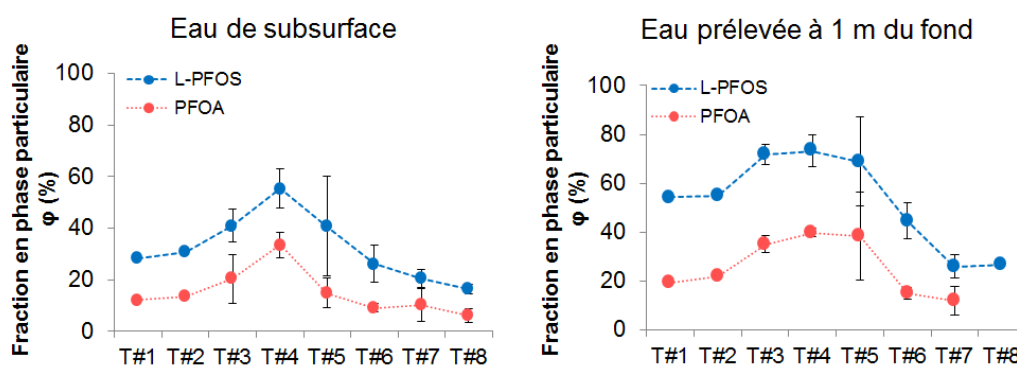


Figure 7.17. Fraction de L-PFOS (bleu) et de PFOA (rouge) en phase particulaire (ϕ) (%) le long d'un gradient longitudinal dans l'estuaire de la Gironde (zones T#1 à T#7) et en milieu marin à 50 km à l'ouest de l'embouchure de l'estuaire (T#8).

L'examen du K_D le long du gradient de turbidité/salinité a permis d'apprécier l'influence des facteurs de contrôle de la répartition des PFAS entre phase dissoute et particulaire. Une illustration des corrélations obtenues entre le K_D du PFOS d'une part, et la charge en MES ou la salinité d'autre part, est présentée en **Figure 7.18**.

La prise en compte de l'effet de la salinité (S) et de la concentration en MES dans la génération de modèles prédictifs du K_D en milieu estuarien a été réalisée à partir de l'équation proposée par Turner et Rawling (2001) : $K_D = a \text{MES}^{-b} \times \exp(2,303 \sigma_{\text{ads}}^* \times S)$, où σ_{ads}^* est une constante traduisant la diminution de solubilité des contaminants avec l'augmentation de la salinité (constante de « salting-out ») (Cf. chapitre IV.3). Ces modèles, construits à partir des résultats de la campagne HALOGIR (2014), ont par la suite été validés sur un jeu de données indépendant, acquis lors d'un suivi à Pauillac ($n = 12$, octobre 2012–octobre 2013), afin de prédire les valeurs de $\text{Log } K_D$ à partir des concentrations en MES (132–1916 mg L⁻¹) et de la salinité (0–11,6 ‰). Dans le cas du L-PFOS par exemple, l'erreur moyenne entre la valeur prédite par le modèle et celle réellement mesurée s'échelonne entre -9,2 % et +13 % (en moyenne, -0,27 %) (Cf. Annexes du chapitre IV.3).

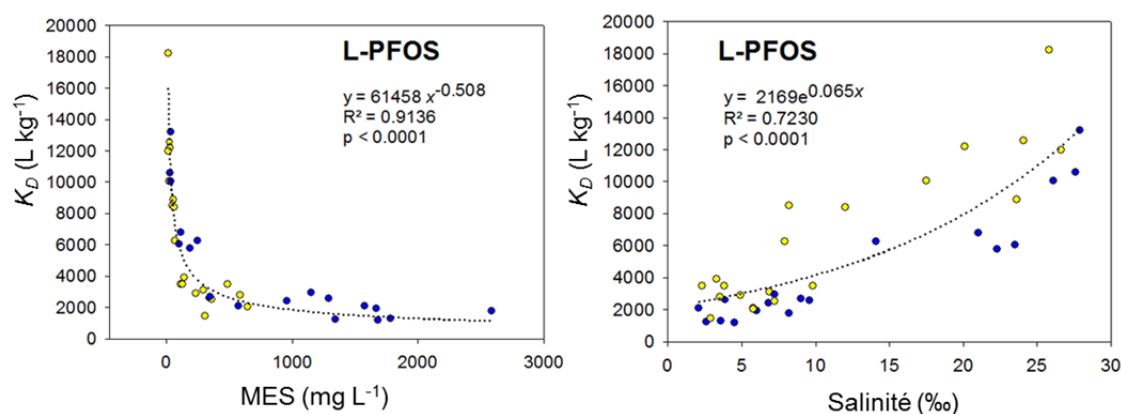


Figure 7.18. Evolution du K_D (L kg^{-1}) en fonction de la charge en matières en suspension (mg L^{-1}) et de la salinité (‰). Le codage couleur permet de distinguer les échantillons de subsurface (jaune) des échantillons de fond (bleu) dans la colonne d'eau.

L'étude des déterminants des niveaux de PFAS dans les sédiments a été conduite à l'échelle nationale en France Métropolitaine lors de la campagne prospective de 2012 ($n = 129$) et à l'échelle locale dans l'estuaire de la Gironde en France ($n = 34$) et dans le bassin versant de la Rivière Chaudière au Québec ($n = 12$). La somme des PFAS et les niveaux des composés individuels sont positivement corrélés à la fraction de carbone organique du sédiment (f_{oc}), ce qui est cohérent avec la littérature (Higgins et Luthy, 2006 ; Ahrens et al., 2009 ; Ahrens et al., 2010 ; Kwadijk et al., 2010 ; Jeon et al., 2011).

Dans le cas du jeu de données de France Métropolitaine, la granulométrie (X_2) n'étant pas significativement corrélée à la f_{oc} (X_1), il a été possible d'examiner l'importance relative de ces deux paramètres sur les concentrations en PFAS dans le sédiment (Y) par le biais d'une régression linéaire multiple de la forme $\ln(1+Y) = \alpha + \beta \cdot X_1 + \gamma \cdot X_2$, en ayant au préalable centré-réduit ces deux paramètres ($X_i \leftarrow (X_i - \text{moyenne})/\text{écart-type}$). Les valeurs censurées ($< \text{LOD}$) ont été prises en compte dans la régression avec la fonction *cenken* du package NADA sous R, permettant ainsi de contourner le biais potentiel associé aux approches de substitution traditionnelles. Le modèle s'est avéré significatif pour les deux coefficients simultanément (β et γ significativement $\neq 0$) dans le cas du FOSA uniquement (Cf. Annexes du chapitre IV.1), et significatif pour β dans le cas du Br-PFOS, du L-PFOS et du FOSA. Une approche similaire a permis d'évaluer l'influence relative de f_{oc} (X_1), de la granulométrie (X_2) et des concentrations de PFAS en phase dissoute (X_3) sur les concentrations de PFAS dans le sédiment (Y). Les coefficients associés à X_1 , X_2 et X_3 étaient significatifs ou presque significatifs pour le PFDA, le FOSA, le Br-PFOS et le L-PFOS, et le coefficient associé à X_3 n'est pas apparu plus prépondérant que celui associé aux deux autres facteurs (Cf. Annexes du chapitre IV.1). Ces résultats suggèrent que dans le cas des sédiments continentaux associés à un milieu lacustre ou fluvial, la teneur en carbone organique du sédiment est un facteur prépondérant de l'accumulation sédimentaire des PFAS étudiés.

A l'échelle de l'estuaire de la Gironde, les sédiments échantillonnés ($n = 34$) ont été caractérisés en termes de granulométrie, de teneur en carbone organique, en azote organique, en carbone suie, en oxydes de fer, et en matière organique totale. Avant de hiérarchiser l'importance de ces différents paramètres sur les niveaux de PFAS dans le sédiment (Y), il convient de s'assurer au préalable qu'il n'y ait pas de colinéarité entre eux. A l'exception notable du carbone suie, les autres paramètres accompagnateurs du sédiment sont tous apparus fortement corrélés entre eux (Cf. Annexes du chapitre **IV.3**). Nous avons donc conservé uniquement la f_{oc} et le carbone suie pour l'analyse initiale de corrélations avec les concentrations de PFAS. La f_{oc} est apparue comme un facteur plus prépondérant que le carbone suie ou que la distance par rapport aux sources amont (évaluée comme distance à la zone T#1, située au point de rencontre de la Garonne et de la Dordogne).

VII.5. TRANSFERT DES PFAS DU MILIEU AUX ORGANISMES

Le transfert des PFAS du compartiment abiotique vers les organismes a été évalué *in situ* par la caractérisation des facteurs de bioaccumulation et de bioamplification. Le chapitre **V.1** visait à caractériser la dynamique spatio-temporelle de la bioaccumulation des PFAS à l'amont et à l'aval de l'agglomération parisienne chez un modèle biologique à la base du réseau trophique fluvial, le biofilm périphytique. En moyenne, les facteurs de bioconcentration ($BCF = C_{\text{biofilm}}/C_{\text{phase dissoute}}$) sont de l'ordre de 25–100 pour les composés à chaîne courte (PFHxS) et de 1000–10000 pour les composés à chaîne plus longue (PFNA, PFDA, PFUnDA, L-PFOS). Si les teneurs de PFAS dans le biofilm reflètent bien le gradient amont/aval observé pour la phase dissoute, en revanche les BCF sont significativement plus élevés à Marnay que pour les deux sites en aval de l'agglomération parisienne. Cela amène à penser que les BCF dépendent de la concentration, évoluant de manière inversement proportionnelle à la concentration des PFAS en phase dissoute (Cf. chapitre **V.1**). Ces résultats constituent pour les PFAS la première observation *in situ* de la dépendance des BCF à la concentration du milieu, en étroite concordance avec des études précédentes sur la bioconcentration des PFAS en conditions contrôlées pour d'autres modèles biologiques (Liu et al., 2011 ; Hoke et al., 2015). Au chapitre des facteurs de contrôle des BCF des PFAS identifiés dans la présente étude, on citera un potentiel effet inhibiteur des concentrations en cations majeurs (Mg^{2+} , K^+ or Na^+) sur les valeurs de BCF, ce qui rejoint les résultats de Xia et al. (2015) chez la daphnie (*Daphnia magna*), quoique les corrélations négatives observées dans notre cas puissent être fortuites en raison de la colinéarité entre les niveaux de cations et le débit, reflétant le gradient de contamination amont/aval. La différence de nature des communautés périphytiques entre les sites a été appréhendée par le biais de descripteurs tels que l'activité hétérotrophe du biofilm, les teneurs en carbone organique et en azote organique du biofilm, ou encore le ratio carbone organique sur azote organique du biofilm (C/N). Ce dernier facteur est apparu positivement corrélé au BCF pour le PFOA, le PFHxS et le L-PFOS, indiquant que les caractéristiques intrinsèques du biofilm pourraient être un autre facteur clé contrôlant la bioaccumulation des PFAS.

Les facteurs de bioaccumulation ($BAF = C_{\text{biote}} / C_{\text{phase dissoute}}$, en ng kg^{-1} de poids frais, divisée par $C_{\text{phase dissoute}}$, en ng L^{-1}) déterminés pour les différents taxons du réseau trophique estuarien de la Gironde sont relativement faibles pour les composés à chaîne courte (entre 9,5–697 et 20–1250 pour le PFHxS et le PFOA, respectivement) (Cf. chapitre V.3). En revanche, le BAF du FOSA dépasse systématiquement la valeur seuil de 5000, un des critères de classification des substances fortement bioaccumulables tel qu'énoncé à l'annexe XIII de REACH, avec des valeurs de BAF dans la gamme 7430–151200 sur le jeu de données global ($N = 147$; 18 taxons). Les BAF du PFUnDA, du L-PFOS et du PFDA sont également relativement élevés ($BAF = 1030\text{--}54400$, $122\text{--}7490$, et $89\text{--}7370$, respectivement). Ces résultats soulignent à nouveau l'importance de la longueur de la chaîne perfluoroalkylée sur le potentiel de bioaccumulation des PFAS.

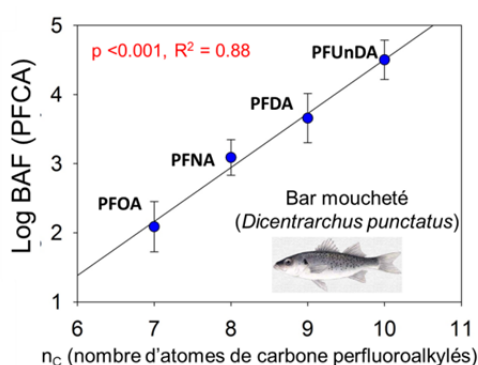


Figure 7.19. Relation $\text{Log BAF} = f(n_c)$ pour les acides perfluoroalkyle carboxyliques (PFCA)

Dicentrarchus punctatus ($n = 28$) dans la Gironde.

Pour les acides perfluoroalkyle carboxyliques comprenant entre 7 et 10 atomes de carbone perfluoroalkylés, l'augmentation de la longueur de la chaîne perfluoroalkyle dans la série s'accompagne d'une accentuation du caractère bioaccumulable. A titre illustratif, la **Figure 7.19** ci-contre présente l'évolution du logarithme du facteur de bioaccumulation (Log BAF) en fonction du nombre d'atomes de carbone de la chaîne perfluoroalkyle (n_c) pour les acides perfluoroalkyle carboxyliques (PFCA) chez le bar moucheté

Fait remarquable, les facteurs de bioaccumulation du sédiment au biote ($BSAF = C_{\text{biote}} / C_{\text{sédiment}}$) calculés pour les organismes benthiques divergent de la tendance linéaire précédemment évoquée dans le cas des BAF pour les acides perfluoroalkyle carboxyliques à courte et moyenne longueur de chaîne. A l'exception des scrobiculaires (*Scrobicularia plana*), les BSAF augmentent généralement du PFHpA au PFNA ou au PFDA, avant de fléchir considérablement pour les acides perfluoroalkyle carboxyliques (PFCA) à plus longue chaîne (PFUnDA au PFTeDA) (Cf. Annexes du chapitre V.3). Un phénomène similaire a été observé pour le meunier noir *Catostomus commersonii* (poisson benthique d'eau douce) dans le bassin versant de la Rivière Chaudière au Québec, le BSAF des PFCA suivant une décroissance exponentielle entre le PFDA et le PFTeDA. Dans l'ensemble, ces résultats concordent avec des expériences de bioaccumulation en milieu contrôlé chez l'oligochète *Lumbriculus variegatus* exposé à des sédiments artificiellement fortifiés ou naturellement contaminés par les PFAS (Higgins et al., 2007).

La variabilité des BAF à l'échelle saisonnière a pu être caractérisée pour les premiers maillons du réseau trophique estuarien (zooplancton, crevettes) selon un pas de temps mensuel (octobre 2012 – octobre 2013) (Cf. chapitre V.2). Il ressort de cette étude que les Log BAF peuvent être considérés comme relativement stables à l'échelle annuelle au niveau du site de Pauillac, suggérant que les concentrations de PFAS dans les organismes échantillonnés sont globalement à l'équilibre avec celles du milieu.

Les facteurs de bioamplification ($BMF = C_{\text{prédateur}} / C_{\text{proie}}$) sont fréquemment supérieurs à 1 dans le cas du PFOS et des acides perfluoroalkyle carboxyliques à longue chaîne, reflétant l'augmentation des concentrations en contaminants de la proie au prédateur. Cette observation reste valable après correction des BMF par le niveau trophique (TL) (BMF_{TL}), le TL étant calculé à partir du $\delta^{15}N$ et de l'équation de Post (2002) pour un réseau avec deux organismes de base (*C. gigas* pour les organismes démersaux/pélagiques et *S. plana* pour les organismes benthiques) : $TL = \lambda + [\delta^{15}N_{\text{consommateur}} - \{\alpha * \delta^{15}N_{S.plana} + (1 - \alpha) * \delta^{15}N_{C.gigas}\}] / \Delta n$

où λ représente le niveau trophique de l'organisme à la base du réseau trophique étudié (pour les producteurs secondaires tels que les bivalves filtreurs, $\lambda = 2$ par convention), Δn est le facteur d'enrichissement moyens entre deux niveaux trophiques successifs ($\Delta n = 3.4 \text{ ‰}$ comme suggéré par Post (2002)), et α est un coefficient utilisé pour ajuster l'importance relative des principales sources alimentaires du consommateur (benthique Vs démersale/pélagique), déterminé à partir des observations de contenus stomacaux des espèces étudiées dans l'estuaire de la Gironde (Pasquaud et al., 2010). Le détail des valeurs de BMF et BMF_{TL} , calculés pour des couples prédateurs/proies pertinents du réseau trophique de l'estuaire de la Gironde, est renseigné en Annexes du chapitre V.3.

Afin d'examiner le potentiel de bioamplification des PFAS au sein d'un réseau trophique, le logarithme de la teneur en contaminant dans les organismes peut être classiquement tracé en fonction d'une variable continue telle que $\delta^{15}N$ ou le niveau trophique, permettant d'accéder au facteur de bioamplification trophique (TMF). Comme l'ont rappelé Borgå et al. (2011), un certain nombre de biais peuvent survenir dans la détermination des TMF. Au premier rang desquels s'élève la question du compartiment ciblé dans les organismes : en effet, certains taxons en bas de l'échelle trophique (zooplancton) sont généralement analysés en tant qu'organismes entiers, alors que pour les mammifères supérieurs le sang ou les organes sont souvent ciblés, ce qui peut conduire dans ce cas à une surestimation des TMF étant donné l'organotropisme des PFAS. Dans le cadre du programme PFC-Gironde, les invertébrés et les petits poissons pélagiques (anchois, sprat) ont été analysés comme organismes entiers (au niveau individuel ou comme homogénats), alors que pour les poissons de plus grande taille le muscle était ciblé. Par conséquent, des facteurs correctifs permettant de rapporter les concentrations dans le muscle à la concentration dans l'organisme entier ont été déterminés chez la sole *S. solea* et le bar moucheté *D. punctatus* et appliqués aux poissons benthiques et démersaux/pélagiques, respectivement. Autre point critique, une disparité des performances analytiques entre différents taxons conduirait à une mauvaise appréciation de la concentration des contaminants et *in fine* à la mésestimation des TMF. La méthode de purification des matrices biologiques solides par protocole combiné Strata X-AW / ENVI-Carb graphite a donné d'excellents résultats en termes d'exactitude, de justesse, et d'effets matriciels (Cf. chapitre III.1). La quantification est réalisée par dilution isotopique par ajout des étalons internes au début de la procédure de préparation afin de compenser les pertes qui pourraient survenir au cours du protocole et de corriger d'éventuels effets matriciels. Enfin, au chapitre des biais d'échantillonnage, le fait qu'une période de 5 mois ait été nécessaire afin de réunir l'ensemble des échantillons du jeu de données ($N = 147$; 18 taxons) aurait pu donner lieu à des inquiétudes quant au biais lié à des dates différentes de

prélèvement, notamment dans le cas des organismes à la base du réseau trophique qui sont sans doute plus sensibles aux variations de concentrations dans le milieu à faible échelle de temps. Cela irait à l'encontre de l'hypothèse de l'état stationnaire nécessaire pour la détermination du TMF (Foster et al., 2012). Toutefois, nous avons pu constater la relative stabilité des niveaux de PFAS à la base du niveau trophique lors du suivi mensuel réalisé à Pauillac (octobre 2012 – octobre 2013), ce qui permet d'extrapoler que le biais lié à l'étalement de l'échantillonnage sur quelques mois dans le cadre du projet PFC-Gironde (mai 2012 – septembre 2012) devrait, somme toute, être assez limité.

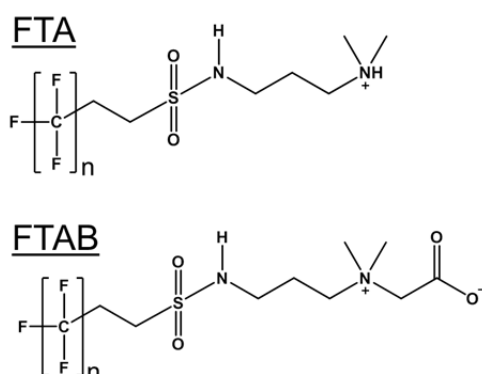
Comme discuté en Section **VII.2**, le traitement accordé aux données censurées (<LOD) peut s'avérer décisif, notamment pour les analyses de régression. Si les résultats <LOD concernent majoritairement les organismes de plus faible niveau trophique, comme cela a souvent pu être le cas pour le jeu de données considéré, la substitution des valeurs censurées par une valeur arbitraire telle que $0,5 \times \text{LOD}$ peut être une source de biais majeure pour la détermination des TMF, ceux-ci augmentant à mesure que la valeur substituée est faible (Cf. Section **VII.2** et chapitre **V.3**). L'utilisation d'une technique plus robuste afin de prendre en compte ces valeurs censurées est possible par une approche de régression sur les rangs (fonction *cenken* du package NADA). Afin de prendre en compte la variabilité liée à l'espèce (variabilité des concentrations et des niveaux trophiques) dans le modèle de régression, des traitements statistiques spécifiques (modèles linéaires mixtes avec prise en compte des valeurs censurées, fonction *lme* du package LMEC) ont été mis en œuvre pour la détermination des TMF. Sur l'ensemble du jeu de données ($N = 147$), les TMFs déterminés avec la fonction *lme* se sont révélés significativement supérieurs à 1 pour les acides perfluoroalkyle carboxyliques du PFOA au PFDoDA (TMF = 1,1–2,0), le PFHxS (TMF = 2,2), les isomères du PFOS (TMF = 1,5–2,2), et le FOSA (TMF = 1,9), suggérant l'existence d'un phénomène de bioamplification pour ces composés dans le réseau trophique estuarien considéré. Une autre observation marquante est la diminution des TMF avec la longueur de la chaîne perfluoroalkylée pour les acides (PFAA) de moyenne à longue chaîne lorsque l'on considère le réseau benthique séparément (Cf. chapitre **V.3**).

VII.6. RECHERCHE DE COMPOSES FLUOROALKYLES D'INTERET EMERGENT

Une évaluation préliminaire de l'occurrence de composés poly- et perfluoroalkylés d'intérêt émergent en France Métropolitaine a été conduite à partir de 12 échantillons de sédiment de la campagne prospective de 2012. Ces échantillons ont été sélectionnés en fonction de la concentration totale en composés ciblés lors de la première vague d'analyses ($\Sigma\text{PFAS} > 4 \text{ ng g}^{-1}$ de poids sec) (Cf. chapitre **IV.1**) et de leur répartition géographique, afin que les territoires des six Agences de l'Eau de France Métropolitaine y soient représentées. De nouvelles analyses ont été réalisées afin de couvrir un spectre de PFAS aussi large que possible, et l'analyse instrumentale opérée par chromatographie liquide couplée à un analyseur Orbitrap Q-Exactive par une source d'ionisation électrospray à inversion rapide de polarité (Cf. chapitre **VI.1**). La recherche de composés d'intérêt émergent s'est principalement focalisée sur les PFAS récemment identifiés dans les compositions de mousses extinctrices hautes performances de type émulseur AFFF (« agent formant un film flottant ») (Place et

Field, 2012 ; D'Agostino et Mabury, 2014). La liste des suspects recherchés en mode Full Scan MS simple incluait donc des composés poly- ou perfluoroalkylés de polarités variées (anioniques, neutres, cationiques et zwitterioniques).

L'identification des composés suspects s'est basée sur l'observation de tendances au niveau des temps de rétention (par exemple, augmentation du temps de rétention d'environ 0,5 min entre homologues d'une même famille de composés pour chaque carbone supplémentaire dans la chaîne perfluoroalkylée) et la déviation maximale acceptée par rapport à la masse exacte théorique a été arbitrairement fixée à ± 5 ppm. Lorsque cela était possible, une semi-quantification des PFAS suspects a été proposée par regroupement avec un analyte de structure similaire pour lequel nous disposions d'une solution étalon. L'élaboration de ce choix est détaillée au chapitre VI.



Une série de fluorotélomères sulfonamido bétaines (FTAB) et de fluorotélomères sulfonamido amines (FTA) a pu être identifiée dans la majorité des échantillons de sédiment de France Métropolitaine sélectionnés (**Figure 7.20**). Un extrait de sédiment ré-analysé en mode t-MS² en mode d'ionisation positif a fourni des éléments de confirmation sur la structure de ces composés avec l'observation de trois fragments caractéristiques (ex : **Figure 7.21**).

Figure 7.20. Structures des FTA et FTAB.

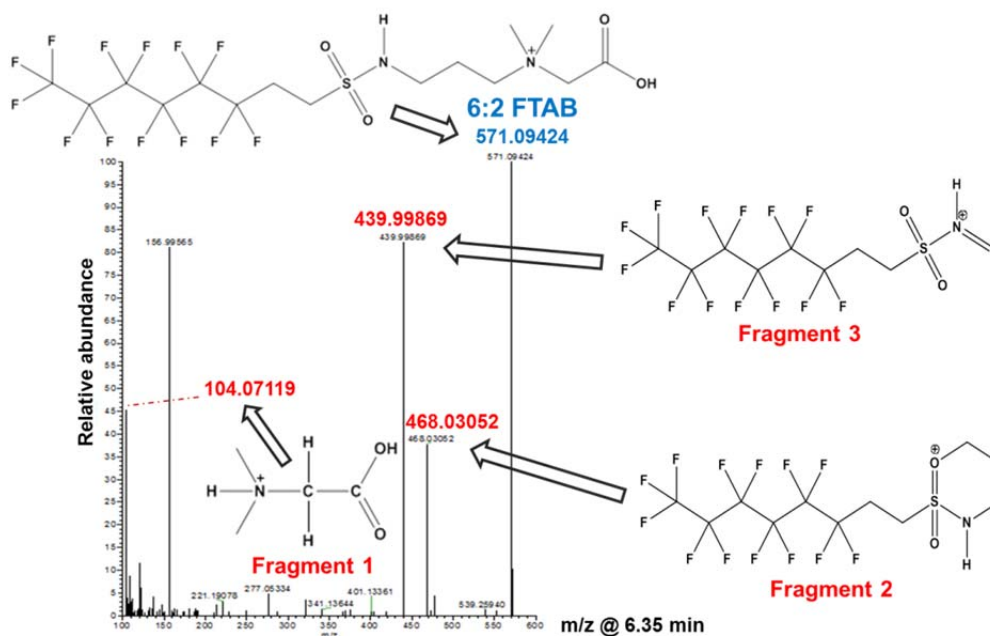


Figure 7.21. Fragments observés en t-MS² pour la 6:2 FTAB.

La 6:2 FTAB est systématiquement détectée dans ces échantillons (12/12) et les concentrations, estimées à partir de l'homologue perfluoroalkylé (PFOSB), atteignent jusqu'à $3,9 \text{ ng g}^{-1}$ de poids sec au niveau de la station #408 (Le Bédât à Saint-Laure, périphérie urbaine de Clermont-Ferrand) (Puy-de-Dôme). D'autres bétaines polyfluoroalkylées telles que la 8:2 FTAB, la 10:2 FTAB et la 12:2 FTAB sont fréquemment retrouvées dans ces échantillons, avec des concentrations maximales entre $4,5$ et $6,8 \text{ ng g}^{-1}$ de poids sec (Cf. chapitre VI.1). De la même manière, la concentration des 6:2 et 8:2 fluorotélomère sulfonamide amines (FTA) a été estimée à partir de la courbe d'étalonnage de l'homologue perfluoroalkylé (PFOSAm). Comme dans le cas des FTAB, les niveaux particulièrement élevés de 6:2 FTA sont observés au niveau de la station #408 ($6,1 \text{ ng g}^{-1}$ de poids sec), ainsi qu'au niveau de la station #612 (Ouche à Crimolois, périphérie urbaine de Dijon) (Côte-d'Or). Fait intéressant, les stations #408 et #612 sont toutes deux caractérisées par une faible capacité de dilution (débits moyens annuels $< 2 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ et $< 10 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, respectivement) (<hydro.eaufrance.fr>) et par la présence d'une grande agglomération à proximité. Avant de traverser la commune de Saint-Laure, le Bédât reçoit les eaux du ruisseau des Ronzières qui passe à quelques dizaines de mètres de la principale station de traitement des eaux de Clermont-Ferrand (capacité nominale : 425 000 habitants). Outre des effluents domestiques/urbains et industriels, il est probable que cette station d'épuration reçoive également les eaux de l'aéroport de Clermont-Ferrand où des activités impliquant l'utilisation de mousses extinctrices de type AFFF pourraient avoir eu lieu dans le cadre de la lutte contre le feu (gestion des accidents, exercices d'entraînement). La station #612 est quant à elle située à moins de 2 km en aval direct de l'aéroport de Dijon-Bourgogne, ce qui pourrait en partie expliquer les profils de PFAS observés.

Bien que préliminaires, ces résultats fournissent de premiers éléments sur l'occurrence de PFAS émergents de type zwitterionique et cationique dans les hydro-systèmes continentaux européens. Ils sont aussi à mettre en relation avec des observations au niveau de l'aéroport de Stockholm où des concentrations élevées de fluorotélomère sulfonate (6:2 FTSA) ont été récemment documentées (Ahrens et al., 2015).

Le chapitre VI.2 visait à évaluer l'occurrence de PFAS d'intérêt émergent dans le cadre d'un contexte de contamination accidentelle, suite à l'accident ferroviaire de Lac-Mégantic (Estrie, Québec, Canada) (Figure 7.22).

Le déraillement du convoi ferroviaire MMA-002 transportant huit millions de litres d'hydrocarbures pétroliers légers, survenu la nuit du 6 juillet 2013 au niveau de Lac-Mégantic, est à l'origine des explosions et d'un gigantesque incendie qui ont dévasté une partie du centre-ville et causé la mort de quarante-sept personnes (TSB, 2013 ; MDDELCC, 2014). L'intervention d'urgence pour circonscrire l'incendie a duré près de deux jours et on estime qu'environ 33 000 litres de mousses extinctrices ont été utilisées (ERAP, 2014). Au moins quatre des sept formulations de mousses anti-incendie utilisées sur le site contenaient des tensioactifs fluoroalkylés (Cf. Annexes du chapitre VI.2). Environ 100 000 litres de pétrole brut léger se sont écoulés dans le lac Mégantic et la rivière Chaudière adjacente ; de même, il est probable qu'une partie des mousses extinctrices ait pu être disséminée dans les écosystèmes aquatiques de la région (MDDELCC, 2014). Les premières

opérations de décontamination et de suivi environnemental ont notamment ciblé les dérivés du pétrole et les composés organiques volatils (Golder Associés, 2014).



Figure 7.22. Photographies illustrant les conséquences de l'accident ferroviaire de Lac-Mégantic du 6 juillet 2013 (Québec, Canada). Photographie de gauche (Paul Chiasson) : lutte contre le feu au niveau du site de déraillement des wagons. Photographie de droite (Yves Tremblay) : irisation apparaissant à la surface du lac de Mégantic après l'accident, dénotant la présence d'hydrocarbures.

Un plan de gestion a été mis en place sous l'autorité du Ministère de l'environnement, du Développement Durable et de la Lutte contre les Changements Climatiques du Québec (MDDELCC) afin d'évaluer les impacts de la contamination résiduelle dans les rivières Chaudière, incluant notamment l'impact environnemental lié à l'utilisation des mousses extinctrices de type AFFF. Des échantillons de meunier noir (*C. commersonii*, poisson benthique d'eau douce) ont été prélevés le long de la rivière Chaudière en juillet 2013, août 2013, octobre 2013, août 2014 et novembre 2014 du PK 0,6 au PK 92 (la station PK 0,6 étant située à quelques centaines de mètres du lieu de l'accident). L'échantillonnage des sédiments analysés dans cette thèse a été réalisé au cours d'une unique campagne de prélèvement l'année suivante (août–septembre 2014). Une analyse des acides perfluoroalkylés (PFAA) dans ces sédiments, conduite au CEAQ dans le cadre d'une étude d'évaluation du risque écotoxicologique, suggérait l'absence de niveaux détectables de PFAA. L'application de la méthode analytique décrite au chapitre VI.1 à ces échantillons a permis de confirmer ces résultats préliminaires, des concentrations relativement faibles de PFAA étant observées ($\Sigma\text{PFAA} < 0,2 \text{ ng g}^{-1}$ de poids sec) (Cf chapitre VI.2 pour la discussion du profil moléculaire). Les échantillons de meunier noir *C. commersonii* ont montré des concentrations totales en PFAA de l'ordre de $3,7 \pm 1,6 \text{ ng g}^{-1}$ de poids frais. Ces teneurs sont relativement faibles par rapport à celles observées dans le muscle de poissons de milieux lacustres soumis à de plus fortes pressions anthropiques tels que le Lac Ontario au Canada (Martin et al., 2004) ou le lac Tai en Chine (Fang et al., 2014), ainsi que par rapport à des milieux fluviaux à forte pression urbaine tels que l'Orge (affluent de la Seine) en France (Labadie et Chevreuil, 2011a). Par ailleurs, aucune incidence significative de l'accident ferroviaire n'est apparue en termes de ΣPFAA en comparant les échantillons de meunier noir prélevés dans la rivière Chaudière et le lac Mégantic après l'accident (2013–2014) avec des échantillons de référence (meuniers noirs prélevés en 2011 dans le lac Mégantic). Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que les formulations de mousses extinctrices utilisées sur le site ne

contenaient pas de niveaux significatifs de PFAA. De même, le PFOS est resté à des niveaux relativement faibles ($\sim 1,2 \text{ ng g}^{-1}$ de poids frais) durant la période échantillonnée (2011–2014, N = 36) (**Figure 7.23**).

En complément, une liste de composés fluoroalkylés d'intérêt émergent à rechercher a été établie à partir de la littérature, l'accent étant porté sur les PFAS nouvellement identifiés dans les formulations de mousses de type AFFF (Place et Field, 2012 ; D'Agostino et Mabury, 2014) (Cf. Annexes du chapitre VI.2 pour la méthodologie d'identification et de semi-quantification des suspects).

Les fluorotélomères sulfonamido bétaines (la 8:2 FTAB et la 10:2 FTAB) et fluorotélomères bétaines (notamment la 7:1:2 FTB, la 9:3 FTB et la 9:1:2 FTB) ont été mesurées chez le meunier noir suite à l'accident ferroviaire, avant de nettement diminuer l'année suivante (par exemple, diminution de $\sim 98 \%$ des teneurs en 9:1:2 FTB entre juillet 2013 et novembre 2014) (**Figure 7.23**). À l'inverse, la contribution relative des fluorotélomères sulfonates (8:2 FTSA et 10:2 FTSA) augmente l'année suivante, indiquant que ces composés sont sans doute plus bioaccumulables et persistants que les PFAS de type bétaine. Les échantillons de sédiment du bassin versant de la rivière Chaudière présentent en 2014 des profils de contamination dominés par les PFAS de type bétaine (Cf. chapitre VI.2).

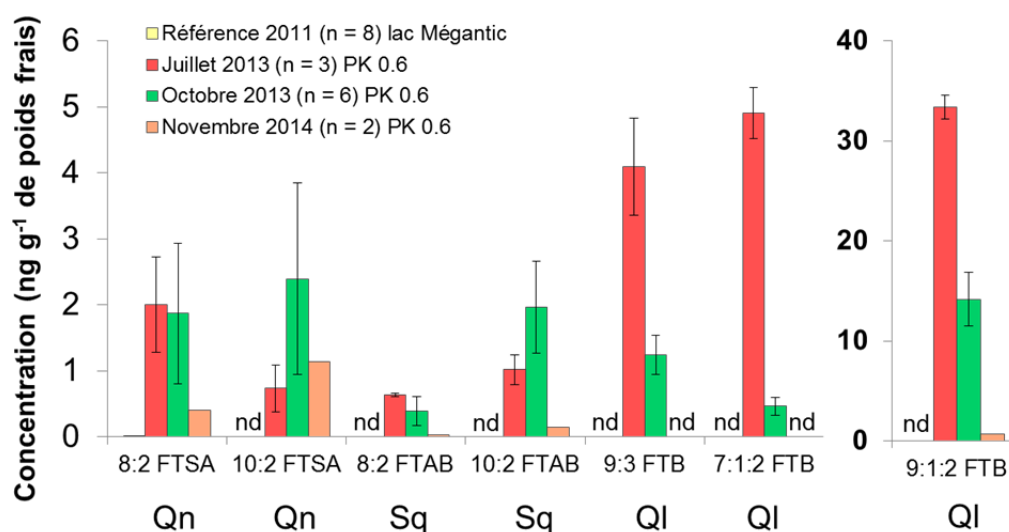


Figure 7.23. Evolution des concentrations (ng g^{-1} de poids frais, filet) des principaux suspects identifiés post-accident dans les échantillons de meunier noir *C. commersonii* de la rivière Chaudière collectés au niveau du PK 0.6 en juillet 2013, octobre 2013 et novembre 2014. Huit échantillons de *C. commersonii* échantillonnés en 2011 dans le lac de Mégantic servaient de témoin avant l'accident (FTSA : fluorotélomère sulfonate ; FTAB : fluorotélomère sulfonamido bétaine ; FTB : fluorotélomère bétaine). Les analytes sont classés selon le degré de confiance accordé à leur quantification : Qn (quantitatif), Sq (semi-quantitatif) et QI (indicatif). Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type.

Lors d'expériences en conditions contrôlées, Moe et al. (2012) ont examiné les produits de transformation de la formulation AFFF Forafac 1157 et ont observé la photolyse chimique de la 6:2 FTAB ainsi que sa métabolisation chez la moule commune *Mytilus edulis* ou le turbot *Scophthalmus maximus*. La **Figure 7.24** présente une possible voie de dégradation de la 8:2 FTAB établie à partir des résultats de Moe et al. (2012) sur la 6:2 FTAB et des connaissances sur la biodégradation des composés polyfluoroalkylés anioniques (on se réfèrera par exemple à la synthèse de littérature de Liu et Mejia-Avendaño, 2013). Si nous avons pu observer plusieurs de ces métabolites postulés (8:2-M₁, 8:2-M₂, 8:2 fluorotélomère sulfonamide, 8:2 FTSA et 7:3 Acide), il convient de rester prudent car il est impossible d'affirmer que telle molécule est formée à partir de telle autre *in situ* sur la seule base de notre plan d'échantillonnage. En effet, les métabolites postulés de la 8:2 FTAB pourraient provenir en partie d'impuretés déjà présentes dans les formulations de mousses au moment de leur déploiement (impuretés de synthèse ou produits de dégradation de la 8:2 FTAB lors de la conservation des formulations avant leur utilisation). A plus long terme, ces métabolites pourraient cependant être convertis en PFAA (**Figure 7.24**).

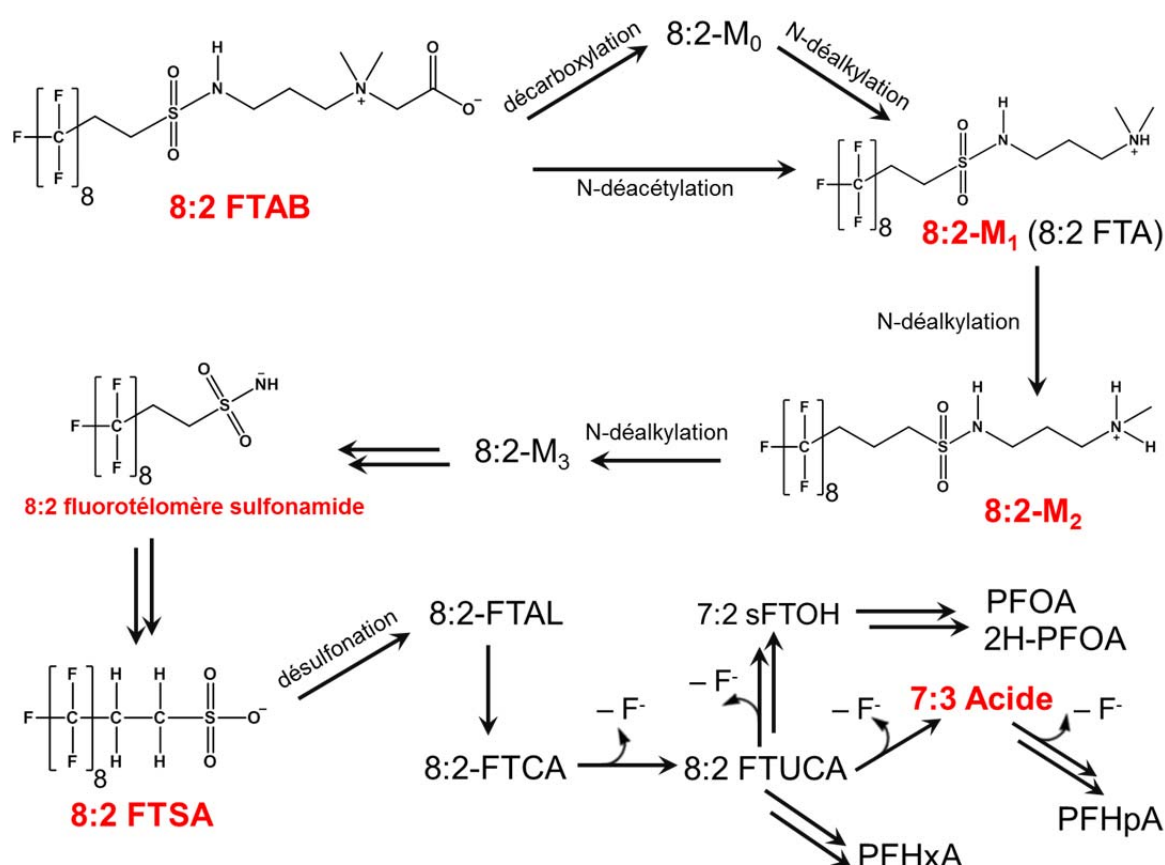


Figure 7.24. Voie de dégradation postulée de la 8:2 FTAB. Les formes représentées correspondent aux ions recherchés en spectrométrie de masse.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les travaux de recherche présentés dans ce mémoire s'inscrivent dans le cadre global de l'évaluation des risques environnementaux liés aux activités anthropiques. Conséquence de l'accélération stupéfiante de la démographie depuis les années 1960 – en moyenne, un milliard d'êtres humains supplémentaires tous les douze ans – et de l'évolution des modes de vie (ex : consommation accrue de produits manufacturés, intensification des pratiques agricoles), la dissémination d'une quantité croissante de polluants xénobiotiques dans l'environnement, dont le devenir et l'impact n'ont souvent été révélés qu'après plusieurs décennies de commercialisation. Depuis la prise de conscience qu'a suscitée la publication en 1962 du *Printemps Silencieux* (« *Silent Spring* ») par Rachel Carson, l'attention de la communauté scientifique et des pouvoirs publics s'est notamment portée sur plusieurs familles de composés organohalogénés rémanents, désormais présents à l'échelle planétaire, et qui sont susceptibles de présenter un risque écotoxicologique et sanitaire en raison de leur potentiel de bioaccumulation et de toxicité (Muir et Howard, 2006 ; Ramade, 2007). Les tensioactifs poly- et perfluoroalkylés (PFAS) font partie de ces micropolluants organohalogénés dont la surveillance n'est que relativement récente. Bien que produits industriellement depuis les années 1950–1960, il faudra attendre les années 2000 pour voir la multiplication des études environnementales sur les PFAS, dans le sillage des travaux de Giesy et Kannan (2001) mettant en lumière la prédominance du perfluorooctane sulfonate (PFOS) au sein des biocénoses. Les PFAS sont des contaminants ubiquistes des environnements aquatiques, y compris en zone arctique (Butt et al., 2010) et Antarctique (ex : Llorca et al., 2012). Bien que la production de PFOS ait été progressivement abandonnée en Amérique du Nord et en Europe à partir des années 2000, il est notoire et manifeste que ce composé persistera encore pendant plusieurs décennies dans l'environnement.

Dans ce contexte, la première partie de ce doctorat a consisté à développer et à valider des méthodes d'analyse des PFAS, dans la continuité des travaux entrepris au sein des UMR 7619-Sisyphe et 5805-EPOC pour les matrices eau, sédiment et biote (Labadie et Chevreuil, 2011a,b ; Bertin et al., 2014). Cette étape préliminaire est indispensable afin de garantir la fiabilité des données, de la phase d'échantillonnage jusqu'à celle de l'analyse instrumentale, d'autant plus que les résultats générés peuvent parfois avoir des implications sur les décisions prises par les autorités compétentes en gestion de l'environnement. L'optimisation des conditions d'analyse (ex : extraction, purification, analyse instrumentale) a souvent été conduite par l'approche heuristique classique qui consiste à examiner successivement chacun des paramètres afin d'en déterminer un optimum local. Toutefois, lorsqu'il était opportun de le faire, l'optimisation a été conduite sur plusieurs paramètres simultanément avec l'aide de techniques de chimiométrie (construction et réalisation de plans d'expérience, modélisation). En raison de la diversité des analytes étudiés, la sélection des conditions opératoires « optimales » a été réalisée sur la base de compromis (ex : choix de la condition favorisant une aire maximale pour la majorité des analytes ; variabilité la plus faible, lorsque les essais

étaient répliqués). Lors de prochains travaux, il serait intéressant d'utiliser des techniques d'optimisation multicritère (ex : fonction de désirabilité de Derringer) afin de guider le choix final des conditions optimales. Par ailleurs, une analyse de sensibilité de la méthode autour de la zone optimale serait également bienvenue.

Par la suite, les méthodes ont été validées en termes de linéarité, d'effet matriciel, de blancs analytiques, de limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ), de rendement global de préparation et de fidélité. Dans le cas où des matrices de référence ou certifiées étaient disponibles, la justesse a également été évaluée (ex : NIST SRM 1947 et 1957). Une fois les méthodes validées, l'analyse régulière de points de contrôle a permis de tester la robustesse et la fiabilité des méthodes lors de leur application à de grandes séries d'échantillons, mais aussi de caractériser la conservation des analytes en amont du démarrage de la procédure analytique au laboratoire.

L'analyse des PFAS dans les matrices aqueuses par désorption thermique par diode laser couplée à l'ionisation chimique à pression atmosphérique et à la spectrométrie de masse haute résolution (LDTD/APCI-Orbitrap-MS) offre des perspectives intéressantes pour le criblage des PFAS (LOD comprises entre 0,05–4 ng L⁻¹), l'analyse instrumentale étant réalisée en moins de dix secondes. Cependant, les étapes de préparation se sont avérées relativement lourdes à mettre en œuvre dans le cas des effluents de stations d'eaux usées, en raison des effets matriciels constatés ; la nécessité d'utiliser des courbes d'étalonnage dans la matrice (ajouts dosés) pourrait être un autre frein à l'application de cette technique pour des analyses de routine. Dans le cas des matrices solides (sédiments, biote), il est possible d'envisager, comme développements futurs, de condenser les étapes de préparation en amont de l'analyse instrumentale afin que l'analyse des PFAS par LDTD puisse réellement prétendre au statut de méthode « ultra-rapide ». A cette occasion, il serait alors judicieux de comparer les performances de la méthode développée avec celles d'autres types de couplages instrumentaux traditionnellement utilisés pour l'analyse des PFAS (ex : LC/ESI-MS/MS).

Dans le cas des techniques instrumentales faisant intervenir la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/ESI-MS/MS ou LC/ESI-Orbitrap-MS), les limites de détection des PFAS étaient de l'ordre de 0,0002–0,3 ng L⁻¹ dans les eaux de surface, 0,0006–0,5 ng g⁻¹ dans les sédiments, et 0,001–0,4 ng g⁻¹ dans les tissus de poisson, compatibles avec les niveaux environnementaux attendus. La méthode d'analyse des PFAS dans le plasma d'oiseaux marins par SPE en ligne couplée à la LC/ESI-MS/MS présente comme double avantage d'allier une très faible prise d'essai (25 µL de plasma) à une consommation minimale d'étalons internes (~ 30 pg par échantillon), l'injection d'une large proportion d'extrait final (50 %) permettant de conserver des limites de détection adéquates (0,003–0,1 ng mL⁻¹). Par sa robustesse et ses performances pour l'analyse ultra-trace des PFAS, cette méthode d'analyse devrait être appliquée à de plus grandes séries d'échantillons de plasmas d'oiseaux marins antarctiques afin d'évaluer le lien entre niveaux de PFAS et paramètres métaboliques (ex : hormones). La faiblesse de la prise d'essai implique également que cette méthode pourrait être transposable à l'analyse de PFAS chez des oiseaux de plus petite taille (ex : passereaux) ou chez des modèles biologiques classiquement utilisés en écotoxicologie (ex : *Danio rerio*, *Oryzias latipes*). La méthode d'analyse des PFAS par LC/ESI-Orbitrap-MS dans les

sédiments est l'une des premières portant sur l'analyse semi-quantitative de tensioactifs fluoroalkylés zwitterioniques et cationiques dans les matrices environnementales, la littérature sur le sujet étant encore à l'heure actuelle extrêmement parcellaire en raison d'un manque d'étalons analytiques disponibles (Backe et al., 2013). L'optimisation des conditions d'extraction et de purification pour la détermination des PFAS dans le sédiment a permis d'obtenir une méthode d'analyse idoine pour des PFAS de longueurs de chaînes perfluoroalkyle variées ($n_C = 3-18$) et de diverses polarités (anioniques, cationiques, zwitterioniques).

Dans une deuxième partie, les méthodes analytiques développées et validées ont été appliquées à des séries d'échantillons environnementaux afin d'apporter de nouveaux éléments de réponse à l'occurrence et à l'écodynamique des PFAS dans les écosystèmes aquatiques.

Sous l'impulsion du Ministère de l'Environnement, l'Office National de L'Eau et des Milieux Aquatiques (ONEMA) a lancé une vaste campagne d'échantillonnage en 2012 des eaux douces de surface en France Métropolitaine et dans les Départements d'Outre-Mer, pour un total de 158 sites choisis parmi les stations du réseau de contrôle de surveillance (Botta et Dulio, 2014). L'objectif de cette campagne prospective était de caractériser l'état de contamination des matrices eau et sédiment par des micropolluants d'intérêt émergent (182 composés), afin d'actualiser les listes de composés qui doivent faire l'objet d'une surveillance. Dans les eaux de surface sélectionnées en France Métropolitaine ($n = 333$), 11 PFAS sur les 21 ciblés ont montré des fréquences de détection supérieures à 50 % ; par ailleurs, une vingtaine d'échantillons présentent des concentrations totales de PFAS (Σ PFAS) supérieures à la centaine de ng L^{-1} , dont les 2/3 se classent dans les bassins Adour-Garonne ou Rhône-Méditerranée. En général, la Σ PFAS dans le sédiment ($n = 129$) oscille entre $<\text{LOD}-25 \text{ ng g}^{-1}$ de poids sec, corrélée à des facteurs intrinsèques au sédiment tels que la fraction organique (f_{OC}) ou la granulométrie, et à d'autres facteurs tels que la concentration des PFAS dans la colonne d'eau, en lien avec les sources directes/indirectes de PFAS. Une analyse multivariée non-linéaire (réseau de neurones artificiels) a permis de synthétiser l'information et de regrouper des sites en fonction de leur composition. Par exemple, certaines stations le long du Rhône présentaient des contributions élevées en PFCA (ex : $> 99 \%$ de la Σ PFAS dans le sédiment à Chasse-sur-Rhône en aval de Lyon), sans doute la conséquence d'activités industrielles dans le bassin versant du Rhône (ex : sites de production de polymères fluorés). L'examen des cartes auto-organisatrices de Kohonen a également permis d'établir des similarités entre des stations appartenant à des ensembles hydrographiques distincts. Combiné à des traitements statistiques alternatifs permettant l'intégration des valeurs inférieures aux limites de détection sans avoir recours à des approches de substitution classiques (ex : $0,5 \times \text{LOD}$), le vaste ensemble de données résultant de cette étude d'envergure nationale a permis d'établir des statistiques descriptives et des corrélations plus robustes. Dans la même optique, une approche originale de calcul des coefficients de distribution eau-sédiment ($\text{Log } K_D$ et $\text{Log } K_{OC}$) a été proposée. Comme conséquences concrètes de cette étude, certaines substances fluorées telles que le perfluoro-n-decanoate (PFDA, CAS 335-76-2) seront incluses dans le prochain cycle de surveillance 2016-2021 des Agences de l'Eau en France Métropolitaine et dans les Départements d'Outre-Mer.

La dynamique spatio-temporelle et la bioaccumulation des PFAS en lien avec les conditions hydrologiques et biogéochimiques ont été explorées en milieu fluvial ou estuarien dans le cadre du programme PIREN-Seine et des projets HALOGIR et PFC-Gironde. Il s'agissait également d'évaluer le potentiel de bioamplification des PFAS en milieu estuarien (PFC-Gironde).

Ainsi, l'impact de l'agglomération parisienne sur les niveaux et profils moléculaires de PFAS dans les matrices eau, sédiment et biofilm a été caractérisé. Les niveaux médians de PFAS sont décuplés entre Marnay-sur-Seine (200 km en amont de Paris) et Triel-sur-Seine (80 km en aval de Paris) ; en parallèle, la part du 6:2 FTSA dans la composition du profil moléculaire s'accroît d'un facteur ~ 30 , en lien avec des apports urbains ponctuels (rejets de stations de traitement des eaux usées) et/ou diffus par temps pluvial (ruissellement des eaux urbaines, phénomènes de résurgence de nappes phréatiques). Le profil particulier observé à Triel à quelques kilomètres en aval de la confluence avec l'Oise pourrait être également dû à des apports d'origine industrielle (usine de synthèse de fluoropolymères). Autre fait marquant, l'observation *in situ* de la dépendance inversement proportionnelle entre le facteur de bioconcentration (BCF) des PFAS dans le biofilm périphytique et les concentrations de PFAS en phase dissoute, en étroite concordance avec des observations précédentes en conditions contrôlées pour d'autres modèles biologiques (Liu et al., 2011 ; Hoke et al., 2015). La différence de nature des communautés périphytiques a été appréhendée par le biais de descripteurs du biofilm parmi lesquels l'activité hétérotrophe, les teneurs en carbone organique (C) ou en azote organique (N), ou encore le rapport C/N. Ce dernier facteur est apparu significativement corrélé au BCF pour le PFOA, le PFHxS et le L-PFOS, ce qui indique que les caractéristiques inhérentes au biofilm pourraient être un autre facteur clé contrôlant la bioaccumulation des PFAS. Lors de futurs travaux, la bioaccumulation de PFAS d'intérêt émergent (ex : PFAS cationiques et zwitterioniques) dans des organismes fluviaux à la base du réseau trophique (ex : cladophores, biofilm, phytoplancton, zooplancton) pourrait être étudiée en conditions contrôlées en laboratoire ou *in situ* (ex : thèse d'Harry Byers en cours à l'UFZ, Leipzig).

En milieu estuarien, nous avons pu constater la relative stabilité des niveaux et profils de PFAS dans la colonne d'eau et les premiers maillons trophiques (zooplancton, crevettes) au niveau du site de Pauillac (Gironde) à l'échelle d'une année hydrologique (2012–2013), les concentrations variant au maximum d'un facteur 2–3. Par la suite, la campagne HALOGIR (2014), menée à bord du Côtes de la Manche (CNRS/INSU), a permis d'évaluer la répartition des PFAS dans la colonne d'eau et le sédiment le long d'un gradient de salinité/turbidité dans l'estuaire de Gironde entre le Bec d'Ambès et la Pointe de Grave. Les concentrations totales de PFAS (phase dissoute + particulaire) diminuent vers l'embouchure, ce qui confirme à nouveau l'origine anthropique fluviale de ces polluants. L'influence de la salinité et de la concentration des solides en suspension sur le K_D a été prise en compte afin de générer des modèles empiriques de distribution pour les PFAS (Turner et Rawling, 2001), ce qui constitue une première étape vers la modélisation du transport des PFAS à l'interface terre-mer.

Les PFAS se sont avérés ubiquistes dans l'ensemble des organismes du réseau trophique de la Gironde (18 taxons, N = 147 échantillons). Le PFOS et le FOSA sont systématiquement détectés,

tandis que les PFCA à longue chaîne ($n_c = 9-13$) présentaient également des fréquences de détection élevées (86–95 %). Concernant la Σ PFAS, les teneurs moyennes par taxon se sont échelonnées de 0,98 à 31 ng g⁻¹ de poids frais dans l'organisme entier. Le PFOS dominait largement le profil moléculaire (~ 46 % de Σ PFAS), avec toutefois quelques particularités selon les taxons (ex : domination du FOSA chez *Crassostrea gigas* et *Sprattus sprattus*, rapport PFNA/PFOS relativement élevé pour les organismes benthiques). La bioamplification par voie trophique a été évaluée en prenant garde à un certain nombre de biais liés à l'échantillonnage, à l'analyse chimique, et aux traitements statistiques (Borgå et al., 2011). Par exemple, les facteurs d'amplification trophique (TMF) ont été déterminés par des modèles linéaires mixtes intégrant les valeurs inférieures aux limites de détection dans la régression. Sur l'ensemble du jeu de données (N = 147), les facteurs d'amplification trophique (TMF) se sont révélés significativement supérieurs à 1 pour les PFCA du PFOA au PFDoDA (TMF = 1,1–2,0), le PFHxS (TMF = 2,2), les isomères du PFOS (TMF = 1,5–2,2) et le FOSA (TMF = 1,9), suggérant l'existence d'un phénomène de bioamplification dans le réseau trophique estuarien considéré. Notons, comme perspectives à ce travail, que le projet PFC-GIRONDE est interconnecté au projet MOMBASAR (Mounier et al., 2015), dont l'objectif sera de paramétrer un modèle de bioaccumulation des contaminants organohalogénés chez la sole (*Solea solea*). La base de données générée dans le cadre de PFC-Gironde pour la sole (n = 31, gamme de taille = 25–250 mm) et son réseau trophique permettra de vérifier l'adéquation du modèle prédictif basé sur des approches de type DEB (« dynamic energy budget ») couplant des modèles bioénergétiques (nutrition, croissance, reproduction) et cinétiques (accumulation/élimination des contaminants).

Enfin, le dernier chapitre peut être considéré comme un regard croisé sur l'occurrence de PFAS d'intérêt émergent anioniques, zwitterioniques et cationiques en France Métropolitaine et au Canada (Québec).

En France Métropolitaine, une évaluation préliminaire a été conduite sur un lot de 12 échantillons de sédiments de la campagne prospective de 2012 (ONEMA), sélectionnés en fonction de leur concentration totale en PFAS dans le sédiment lors de la première vague d'analyses (PFAS neutres et anioniques) ainsi qu'en fonction de leur répartition géographique, afin de couvrir l'ensemble des territoires des six Agences de l'Eau. Une série de fluorotélomères sulfonamido bétaïnes (6:2, 8:2, 10:2 et 12:2 FTAB) et de fluorotélomères sulfonamido amines (6:2 et 8:2 FTA) a été identifiée dans la majorité de ces échantillons. Les concentrations maximales en FTA et FTAB (3–8 ng g⁻¹ de poids sec) correspondent à des cours d'eau à faible débit situés à proximité des aéroports où des activités de lutte contre le feu peuvent survenir. Il convient de souligner la portée de ces résultats, étant donné le manque de données sur l'occurrence environnementale de ces tensioactifs fluorés d'intérêt émergent (Place et Field, 2012 ; D'Agostino et Mabury, 2014).

Au Québec, l'échantillonnage a ciblé les sédiments et le meunier noir (*Catostomus commersonii*) dans le bassin versant de la Rivière Chaudière et le lac éponyme de la ville de Lac-Mégantic, suite à l'accident ferroviaire survenu le 6 juillet 2013. L'intervention d'urgence pour circonscrire l'incendie a duré près de deux jours et environ 33 000 litres de mousses extinctrices ont été utilisés, dont au moins quatre des sept formulations employées contenaient des tensioactifs

fluoroalkylés, d'où l'impérieuse nécessité d'évaluer la dynamique spatio-temporelle des PFAS classiques et d'intérêt émergent dans les matrices environnementales concernées. Sur l'ensemble des trois années échantillonnées, les échantillons de meunier noir ont montré des teneurs totales en acides perfluoroalkylés (PFAA) de l'ordre de $\sim 3,7 \text{ ng g}^{-1}$ de poids frais, des teneurs relativement faibles par rapport à des milieux lacustres tels que le lac Ontario au Canada (Gewurtz et al., 2013). Le PFOS est resté à des niveaux relativement faibles ($\sim 1,2 \text{ ng g}^{-1}$ de poids frais) durant la période échantillonnée (2011, 2013, 2014 ; N = 36) ce qui semble suggérer que les formulations AFFF utilisées n'étaient pas à base de PFOS, ni de l'un de ses précurseurs potentiels. En revanche, les teneurs de fluorotélomères sulfonamido bétaines (8:2 FTAB et 10:2 FTAB) et de fluorotélomères bétaines (notamment 9:3 FTB, 7:1:2 FTB et 9:1:2 FTB) montrent un pic de contamination au mois de juillet 2013 avant de fléchir l'année suivante (2014). L'observation *in situ* de métabolites probables de la 8:2 FTAB et de la 10:2 FTAB (à savoir, fluorotélomères sulfonamides et fluorotélomères sulfonates) confirme des observations de Moe et al. (2012) en conditions contrôlées sur la moule commune *Mytilus edulis* et le turbot *Scophthalmus maximus* exposés à des formulations de mousses extinctrices AFFF.

Dans le prolongement de ces travaux, il pourrait être envisagé d'étudier le transfert des PFAS classiques et d'intérêt émergent entre les matrices eau, sédiment et biote en milieu fluvial urbain tel que la Seine à l'aval de Paris ou le Rhône à l'aval de Lyon/Chasse-sur-Rhône. L'acquisition d'étalons analytiques certifiés pour les PFAS d'intérêt émergent (ex : fluorotélomères sulfonamido bétaines, fluorotélomères bétaines), ainsi que le développement de procédures de stockage, d'extraction, de purification et de quantification adéquates, conditionneront bien évidemment la détermination rigoureuse des concentrations pour ces composés nouvellement identifiés. Alternativement, des méthodes d'oxydation de précurseurs des PFAA pourraient être mises en œuvre afin de quantifier indirectement ces derniers (conversion des précurseurs en PFCA en milieu aqueux en présence de persulfate de potassium et d'hydroxyde de sodium) (Houtz et Sedlak, 2012 ; Houtz et al., 2013). Afin d'élucider les voies métaboliques des PFAS d'intérêt émergent, des expérimentations de dégradation en milieu contrôlé (microcosmes) seront conduites (ex : thèse de Sandra Mejia-Avendaño en cours à l'Université McGill, Montréal).

Les ruisseaux et rivières à proximité des grands aéroports civils ou des bases militaires pourraient s'avérer des sites d'étude privilégiés pour assurer le travail de veille scientifique en matière d'usages et de compositions de mousses extinctrices AFFF, une approche non-ciblée devant dans ce cas être privilégiée afin d'identifier de « nouveaux » PFAS (ex : TOF-MS, Orbitrap-MS). La caractérisation des sources de PFAS est d'ailleurs un thème très actuel qui mériterait d'être approfondi dans le cadre de futurs travaux portant sur la contribution des rejets de stations d'épuration ou des eaux de ruissellement à la contamination du système hydrographique, ou sur la caractérisation des apports de PFAS par voie atmosphérique. Par exemple, le projet REGARD porté par la Lyonnaise des Eaux visera à évaluer les sources de micropolluants d'intérêt émergent dans le réseau d'assainissement des eaux usées en amont des stations d'épuration (ex : zones industrielles, quartiers résidentiels) au niveau d'une unité géographique cohérente, l'agglomération bordelaise

(thèse de Caroline Simonnet-Laprade en cours au LPTC, Bordeaux). Les PFAS classiques et d'intérêt émergent pourraient également faire l'objet de développements analytiques spécifiques à l'aide de techniques intégratives d'échantillonnage (thèse de Caroline Simonnet-Laprade), dans la continuité de tests préliminaires (Kaserzon et al., 2012 ; Wund, 2013), et grâce à l'expérience acquise par le LPTC dans le domaine de l'échantillonnage passif pour d'autres micropolluants organiques (ex : Belles, 2012 ; Soulier, 2012 ; Aminot, 2013 ; Desgranges, 2014 ; Cruz, 2015).

Pour conclure, ce doctorat a été l'occasion privilégiée d'entrevoir l'extrême complexité des biais analytiques et statistiques qui peuvent continuellement survenir, sans y apporter de réponse forcément catégorique. La grande diversité des sites examinés dans le cadre de ces travaux a permis de confirmer une nouvelle fois le caractère ubiquiste des PFAS dans les environnements aquatiques. La couverture spatiale exceptionnelle de la campagne prospective de 2012 est à mettre au crédit de l'excellent travail d'échantillonnage des Agences de l'Eau pour les eaux de surface et du BRGM pour les eaux souterraines, dont les équipes ont sillonné la France métropolitaine, Mayotte et la Réunion, l'arc Antillais, et la Guyane équatoriale. A l'avenir, des actions de suivi similaires à l'échelle nationale voire transnationale devraient être entreprises périodiquement afin de contrôler l'intégrité chimique et biologique des masses d'eau. La gestion et la préservation de « l'or bleu » s'annoncent, encore au XXI^e siècle, comme un enjeu sociétal majeur (Schneier-Madanes, 2010).

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

3M, **1999**. The Science of Organic Fluorochemistry, OPPT-2002-0043-0006, 3M Company, February 5, 1999, 12pp.

3M, **2000**. Phase-out plan for PFOSF-based products. US Environmental Protection Agency Public Docket OPPT-2002-0043, St Paul, Minnesota, 2000.

3M, **2003**. Environmental and Health Assessment of PerfluorooctaneSulfonate and its Salts. Available on US EPA Administrative Record AR-226.

A

Abdallaha, H., Arnaudguilhem, C., Jaber, F., Lobinski, R., **2014**. Multiresidue analysis of 22 sulfonamides and their metabolites in animal tissues using quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction and high resolution mass spectrometry (hybrid linear ion trap-Orbitrap). *J. Chromatogr. A.*, 1355, 61–72.

Abril, G., Etcheber, H., Le Hir, P., Bassoullet, P., Boutier, B., Frankignoulle, M., **1999**. Oxic/anoxic oscillations and organic carbon mineralization in an estuarine maximum turbidity zone (The Gironde, France). *Limnol. Oceanogr.* 44, 1304-1315.

Abril, G., Nogueira, M., Etcheber, H., Cabecadas, G., Lemaire, E., Brogueira, M.J., **2002**. Behaviour of Organic Carbon in Nine Contrasting European Estuaries. *Est. Coast. Shelf Sci.* 54, 241–262.

Ahrens, L., **2009**. Polyfluoroalkyl Compounds in the Marine Environment – Investigations on their Distribution in Surface Water and Temporal Trends in Harbor Seals (*Phoca vitulina*). PhD Thesis.

Ahrens, L., **2011**. Polyfluoroalkyl compounds in the aquatic environment: a review of their occurrence and fate. *J. Environ. Monit.* 13, 20–31.

Ahrens, L., Barber, J.L., Xie, Z., Ebinghaus, R., **2009a**. Longitudinal and latitudinal distribution of perfluoroalkyl compounds in the surface water of the Atlantic Ocean. *Environ. Sci. Technol.* 43, 3122–3127.

Ahrens, L., Bundschuh, M., **2014**. Fate and effects of poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: a review. *Environ. Toxicol. Chem.* 33, 1921–1929.

Ahrens, L., Felizeter, S., Sturm, R., Xie, Z., Ebinghaus, R., **2009d**. Polyfluorinated compounds in waste water treatment plant effluents and surface waters along the River Elbe, Germany. *Mar. Pollut. Bull.* 58, 1326–1333.

Ahrens, L., Norström, K., Viktor, T., Cousins, A.P., Josefsson, S., **2015**. Stockholm Arlanda Airport as a source of per- and polyfluoroalkyl substances to water, sediment and fish. *Chemosphere* 129, 33–38.

Ahrens, L., Siebert, U., Ebinghaus, R., **2009c**. Total body burden and tissue distribution of polyfluorinated compounds in harbor seals (*Phoca vitulina*) from the German Bight. *Mar. Pollut. Bull.* 58, 520–525.

Ahrens, L., Taniyasu, S., Yeung, L.W.Y., Yamashita, N., Lam, P.K.S., Ebinghaus, R., **2010b**. Distribution of polyfluoroalkyl compounds in water, suspended particulate matter and sediment from Tokyo Bay, Japan. *Chemosphere* 79, 266–272.

Ahrens, L., Xie, Z., Ebinghaus, R., **2010a**. Distribution of perfluoroalkyl compounds in seawater from Northern Europe, Atlantic Ocean, and Southern Ocean. *Chemosphere* 78, 1011–1016.

Ahrens, L., Yamashita, N., Yeung, L.W.Y., Taniyasu, S., Horii, Y., Lam, P.K.S., Ebinghaus, R., **2009b**. Partitioning Behavior of per- and Polyfluoroalkyl Compounds between Pore Water and Sediment in Two Sediment Cores from Tokyo Bay, Japan. *Environ. Sci. Technol.* 43, 6969–6975.

Ahrens, L., Yeung, L.W., Taniyasu, S., Lam, P.K.S., Yamashita, N., **2011**. Partitioning of perfluorooctanoate (PFOA), perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctane sulfonamide (PFOSA) between water and sediment. *Chemosphere* 85, 731–737.

Allen, G.P., Castaing, P., **1973**. Suspended sediment transport from the Gironde estuary (France) into the adjacent continental shelf. *Mar. Geol.* 14, 47–53.

Allen, G.P., Salomon, J.C., Bassoullet, P., Du Penhoat, Y., De Grandpré, C., **1980**. Effects of tides on mixing and suspended sediment transport in macrotidal estuaries. *Sedim. Geol.* 26, 69–90.

Alm, R.R., Stern, R.M., **1992**. Aqueous film-forming foamable solution useful as fire extinguishing concentrate. U.S. Patent No. 5,085,786, February 4, 1992.

Alvarez, L., Alvarez, W., Asaro, F., Michel, H., 1980. Extraterrestrial cause for the Cretaceous-Tertiary extinction. *Science* 208, 1095–1108.

Amiard, J.C. Exemple de classification de la toxicité - cas de la toxicité aiguë chez le rat. Available online at http://uved.univ-nantes.fr/sequence3/html/chap1_part4_1.html, accessed 2015/10/12.

Aminot, Y., **2013**. Étude de l'impact des effluents urbains sur la qualité des eaux de la Garonne estuarienne: application aux composés pharmaceutiques et aux filtres UV. Thèse de Doctorat.

Andersen, M.E., Butenhoff, J.L., Chang, S.C., Farrar, D.G., Kennedy, G.L., Lau, C., Olsen, G.W., Seed, J., Wallace, K.B., **2008**. Perfluoroalkyl acids and related chemistries—toxicokinetics and modes of action. *Toxicol. Sci.* 102, 3–14.

ANSES, **2011**. Campagne nationale d'occurrence des composés alkyls perfluorés dans les eaux destinées à la consommation humaine, 120 pp.

Antignac, J.P., Veyrand, B., Kadar, H., Marchand, P., Oleko, A., Le Bizec, B., Vandentorren, S., **2013**. Occurrence of Perfluorinated Alkylated Substances in Breast Milk of French Women and Relation with Socio-Demographical and Clinical Parameters: Results of the ELFE Pilot Study. *Chemosphere* 91, 802–808.

Arp, H.P.H., Niederer, C., Goss, K.U., **2006**. Predicting the partitioning behaviour of various highly fluorinated compounds. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7298–7304.

Arvaniti, O.S., Ventouri, E.I., Stasinakis, A.S., Thomaidis, N.S., **2012**. Occurrence of different classes of perfluorinated compounds in Greek wastewater treatment plants and determination of their solid–water distribution coefficients. *J. Hazard. Mat.* 239–240, 24–31.

Audru, J.C., Bitri, A., Desprats, J.F., Dominique, P., Euchet, G., Hachim, S., Jossot, O., Mathon, C., Nédellec, J.L., Sabourault, P., Sedan, O., Stollsteiner, P., Terrier-Sedan, M. **2010**. Major natural hazards in a tropical volcanic island: A review for Mayotte Island, Comoros archipelago, Indian Ocean. *Eng. Geol.* 114, 364–381.

Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Jouanneau, J.M., **2004**. Fifty-year sedimentary record of heavy metal pollution (Cd, Zn, Cu, Pb) in the Lot River reservoirs (France). *Environ. Pollut.*, 132, 413–426.

Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., Guérin, F., Masson, M., Robert, S., **2007**. Budgets of Mn, Cd and Cu in the macrotidal Gironde estuary (SW France). *Mar. Chem.* 107, 433–448.

Awad, E., Zhang, X., Bhavsar, S.P., Petro, S., Crozier, P.W., Reiner, E.J., Fletcher, R., Tittlemier, S.A., Braekevelt, E., **2011**. Long-Term Environmental Fate of Perfluorinated Compounds after Accidental Release at Toronto Airport. *Environ Sci. Technol.* 45, 8081–8089.

B

Backe, W.J., Day, T.C., Field, J.A., **2013**. Zwitterionic, cationic, and anionic fluorinated chemicals in aqueous film forming foam formulations and groundwater from U.S. military bases by nonaqueous large-volume injection HPLC-MS/MS. *Environ. Sci. Technol.* 47, 5226–5234.

Banks, R.E., Tatlow, J.C., **1986**. Synthesis of C-F bonds: the pioneering years, 1835–1940. *J. Fluor. Chem.* 33, 71–108.

Barnosky, A.D., Matzke N., Tomiya S., Wogan, G.O.U., Swartz, B., Quental, T.B., Marshall, C., McGuire, J.L., Lindsey, E.L., Maguire, K.C., Mersey B., Ferrer, E.A., **2011**. Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature Reviews* 471, 51–57.

Barzen-Hanson, K., Kleber, K., Field, J.A. Sorption of anionic, zwitterionic and cationic per- and polyfluorinated alkyl substances in soil and sediment. *Fluoros 2015 Conference*.

Baudrimont, M., Schäfer, J., Marie, V., Maury-Brachet, R., Bossy, C., Boudou, A., Blanc, G., **2005**. Geochemical survey and metal bioaccumulation of three bivalve species (*Crassostrea gigas*, *Cerastoderma edule* and *Ruditapes philippinarum*) in the Nord Médoc salt marshes (Gironde estuary, France). *Sci. Total Environ.* 337, 265–280.

Bekker, A., Holland, H.D., Wang, P.L., Rumble, D., Stein, H.J., Hannah, J.L., Coetzee, L.L., Beukes, N.J., **2004**. Dating the rise of atmospheric oxygen. *Nature* 427, 117–120.

Belisle, J., **1981**. Organic fluorine in human serum: Natural versus industrial sources. *Science* 212, 1509–1510.

Belisle, J., Hagen, D.F., **1978**. Method for the determination of the total fluorine content of whole blood, serum/plasma, and other biological samples. *Anal. Biochem.* 87, 545–555.

Belisle, J., Hagen, D.F., **1980**. A method for the determination of perfluorooctanoic acid in blood and other biological samples. *Anal. Biochem.* 101, 369–376.

Belles, A., **2012**. Développement et applications environnementales des échantillonneurs passifs pour la surveillance des écosystèmes aquatiques. Thèse de Doctorat.

Benskin, J.P., Bataineh, M., Martin, J.W., **2007**. Simultaneous characterization of perfluoroalkyl carboxylate, sulfonate, and sulfonamide isomers by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 79, 6455–6464.

Benskin, J.P., De Silva, A.O., Martin, J.W., **2010**. Isomer Profiling of Perfluorinated Substances as a Tool for Source Tracking: A Review of Early Findings and Future Applications. Ed. Pim de Voogt. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Perfluorinated alkylated substances*, Springer.

Benskin, J.P., De Silva, A.O., Martin, L.J., Arsenault, G., McCrindle, R., Riddell, N., Mabury, S.A., Martin, J.W., **2009**. Disposition of perfluorinated acid isomers in Sprague-Dawley rats; Part 1: Single Dose. *Environ. Toxicol. Chem.* 28, 542–554.

Benskin, J.P., Ikonou, M.G., Gobas, F.A.P.C., Begley, T.H., Woudneh, M.B., Cosgrove, J.R., **2013**. Biodegradation of N-ethyl perfluorooctane sulfonamido ethanol (EtFOSE) and EtFOSE-based phosphate diester (SAmPAP diester) in marine sediments. *Environ. Sci. Technol.* 47, 1381–1389.

Benskin, J.P., Ikonou, M.G., Gobas, F.A.P.C., Woudneh, M.B., Cosgrove, J.R., **2012**. Observation of a novel PFOS-precursor, the perfluorooctane sulfonamido ethanol-based phosphate (SAmPAP) diester, in marine sediments. *Environ. Sci. Technol.* 46, 6505–6514.

Bérard, A., Dorigo, U., Mercier, I., Becker-van Slooten, K., Grandjean, D., Leboulanger, C., **2003**. Comparison of the ecotoxicological impact of the triazines Irgarol 1051 and atrazine on microalgal cultures and natural microalgal communities in Lake Geneva. *Chemosphere* 53, 935–944.

Berger, U., Haukas, M., **2005**. Validation of a screening method based on liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry for analysis of perfluoroalkylated substances in biota. *J. Chromatogr. A*, 1081, 210–217.

Berkner, L.V., Marshall, L.C., **1964**. The history of oxygenic concentration in the earth's atmosphere. *Discussions of the Faraday Society* 37, 122–141.

Bertin, D., Ferrari, B.J.D., Labadie, P., Sapin, A., Garric, J., Budzinski, H., Houde, M., Babut, M., **2014**. Bioaccumulation of perfluoroalkyl compounds in midge (*Chironomus riparius*) larvae exposed to sediment. *Environ. Pollut.* 189, 27–34.

Beškoski, V.P., Takemine, S., Nakano, T., Slavkovic Beškoski, L.S., Gojic-Cvijovic, G., Ilic, M., Miletic, S., Vrvic, M.M., **2013**. Perfluorinated compounds in sediment samples from the wastewater canal of Pancevo (Serbia) industrial area. *Chemosphere* 91, 1408–1415.

Blanchard, W.A., Rhode, J.C., **1965** (DuPont). Process for preparing perfluoroalkyl iodides. U.S. Patent No 3.226.449, December 28th, 1965.

Blanck, H., Wängberg, S.A., Molander, S., **1988**. “Pollution-Induced Community Tolerance – A New Ecotoxicological Tool”. *Functional Testing of Aquatic Biota for Estimating Hazards of Chemicals*. ASTM STP 988, J. Cairns, Jr., and J.R. Pratt, Eds., American Society for Testing and Materials, Philadelphia, pp. 219–230.

Bocquené, G., Franco, A. **2005**. Pesticide contamination of the coastline of Martinique. *Mar. Pollut. Bull.* 51, 612–619.

Bodin, N., Budzinski, H., Le Menach, K., Tapie, N., **2009**. ASE extraction method for simultaneous carbon and nitrogen stable isotope analysis in soft tissues of aquatic organisms. *Anal. Chim. Acta* 643, 54–60.

Bodin, N., Tapie, N., Le Ménach, K., Chassot, E., Elie, P., Rochard, E., Budzinski, H., **2014**. PCB contamination in fish community from the Gironde Estuary (France): Blast from the past. *Chemosphere* 98, 66–72.

Boët, P., **2009**. *Préserver l'écosystème estuarien de la Gironde ? Des enjeux multiples*. Actes du 1^{er} Carrefour Scientifique de l'Estuaire. Royan, 11 Juillet 2009.

Boisvert, M., Fayad, P.B., Sauvé, S., **2012**. Development of a new multi-residue laser diode thermal desorption atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry method for the detection and quantification of pesticides and pharmaceuticals in wastewater samples. *Anal. Chim. Acta*, 754, 75–82.

Boiteux, V., Dauchy, X., Rosin, C., Munoz, J.F. **2012**. National Screening Study on 10 Perfluorinated Compounds in Raw and Treated Tap Water in France. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 63, 1–12.

Boone, J.S., Guan, B., Vigo, C., Boone, T., Byrne, C., Ferrario, J., **2014**. A method for the analysis of perfluorinated compounds in environmental and drinking waters and the determination of their lowest concentration minimal reporting levels. *J. Chromatogr. A* 1345, 68–77.

Borgå, K., Kidd, K.A., Muir, D.C.G., Olof, B., Conder, J.M., Gobas, F.A.P.C., Kucklick, J., Malm, O., Powell, D.E., **2011**. Trophic magnification factors: considerations of ecology, ecosystems, and study design. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 8, 64–84.

Bossi, R., Riget, F.F., Dietz, R., Sonne, C., Fauser, P., Dam, M., Vorkamp, K., **2005**. Preliminary screening of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and other fluorochemicals in fish, birds and marine mammals from Greenland and the Faroe Islands. *Environ. Pollut.* 136, 323–329.

Botta, F., Dulio, V., **2014**. *Etude sur les contaminants émergents dans les eaux françaises*. Résultats de l'étude prospective 2012 sur les contaminants émergents dans les eaux de surface continentales de la métropole et des DOM. Rapport final, Avril 2014, 139 pp.

Brace, N.O., **1962**. Long chain alkanolic and alkenolic acids with perfluoroalkyl terminal segments. *J. Org. Chem.*, 27, 4491–4498.

Brooke, D., Footitt, A., Nwaogu, T.A., **2004**. Environmental risk evaluation report: Perfluorooctanesulphonate (PFOS). Research Contractor: Building Research Establishment Ltd, Risk and Policy Analysts Ltd.

Buck, R.C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J.M., Cousins, I.T., de Voogt, P., Jensen, A.A., Kannan, K., Mabury, S.A., van Leeuwen, S.P.J., **2011**. Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances in the Environment: Terminology, Classification, and Origins. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 7, 513–541.

Budzinski, H., **1993**. Les composés aromatiques alkylés dans les échantillons pétroliers : Aspects physico-chimiques et thermodynamiques. Thèse de Doctorat.

Budzinski, H., Jones, I., Bellocq, J., Piérard, C., Garrigues, P., **1997**. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Mar. Chem.* 58, 85–97.

Buhrke, T., Kibellus, A., Lampen, A., **2013**. In vitro toxicological characterization of perfluorinated carboxylic acids with different carbon chain lengths. *Toxicol. Lett.* 218, 97–104.

Burkhard, L.P., Borgå, K., Powell, D.E., Leonards, P., Muir, D.C., Parkerton, T.F., Woodburn, K.B., **2013**. Improving the quality and scientific understanding of trophic magnification factors (TMFs). *Environ. Sci. Technol.* 47, 1186–1187.

Butt, C.M., Berger, U., Bossi, R., Tomy, G.T., **2010**. Levels and trends of poly- and perfluorinated compounds in the arctic environment. *Sci. Total Environ.* 408, 2936–2965.

C

Cabidoche, Y.M., Achard, R., Cattan, P., Clermont-Dauphin, C., Massat, F., Sansoulet, J., **2009**. Long-term pollution by chlordecone of tropical volcanic soils in the French West Indies: A simple leaching model accounts for current residue. *Environ. Pollut.* 157, 1697–1705.

Cai, M., Yang, H., Xie, Z., Zhao, Z., F. Wang, Lu, Z., Sturm, R., Ebinghaus, R., **2012**. Per- and polyfluoroalkyl substances in snow, lake, surface runoff water and coastal seawater in Fildes Peninsula, King George Island, Antarctica. *J. Hazard. Mater.* 335–342.

Cailleaud, K., Forget-Leray, J., Souissi, S., Hilde, D., LeMenach, K., Budzinski, H., **2007**. Seasonal variations of hydrophobic organic contaminant concentrations in the water-column of the Seine Estuary and their transfer to a planktonic species *Eurytemora affinis* (Calanoïda, copepoda). Part 1: PCBs and PAHs. *Chemosphere* 70, 270–280.

Calm, J.M., **2008**. The next generation of refrigerants—Historical review, considerations, and outlook. *Int. J. Refrig.* 31, 1123–1133.

Campo, J., Masiá, A., Picó, Y., Farré, M., Barceló, D., **2014**. Distribution and fate of perfluoroalkyl substances in Mediterranean Spanish sewage treatment plants. *Sci. Total Environ.* 472, 912–922.

Campo, J., Pérez, F., Masiá, A., Picó, Y., Farré, M., Barceló, D., **2015**. Perfluoroalkyl substance contamination of the Llobregat River ecosystem (Mediterranean area, NE Spain). *Sci. Total Environ.* 503–504, 48–57.

Cancino, L., Neves, R., **1999**. Hydrodynamic and sediment suspension modelling in estuarine systems. Part II: Application to the Western Scheldt and Gironde estuaries. *J. Mar. Syst.* 22, 117–131.

Cariou, R., Veyrand, B., Yamada, A., Berrebi, A., Zalko, D., Durand, S., Pollono, C., Marchand, P., Leblanc, J.C., Antignac, J.P., Le Bizec, B., **2015**. Perfluoroalkyl acid (PFAA) levels and profiles in breast milk, maternal and cord serum of French women and their newborns. *Environ. Int.* 84, 71–81.

Carloni, D., **2009**. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) production and use: past and current evidence. Report for UNIDO.

Carson, R., **1962**. *Silent Spring*. Carson, R. (1962). Silent Spring 368 p. Houghton Mifflin Co., Boston.

Casey, J.F., Sylvia, D., **1970**. *Fire service hydraulics*. PennWell Books.

Castiglioni, S., Valsecchi, S., Polesello, S., Rusconi, M., Melis, M., Palmiotto, M., Manenti, A., Davoli, E., Zuccato, E., **2015**. Sources and fate of perfluorinated compounds in the aqueous environment and in drinking water of a highly urbanized and industrialized area in Italy. *J. Hazard. Mater.* 282, 51–60.

Chaalali A., Chevillot X., Beaugrand G., David V., Luczak C., Boet P., Sottolichio A., Sautour B., **2013**. Changes in the zooplankton community distribution in the Gironde estuary: A marinsation consequence? *Est. Coast. Shelf Sci.* 134, 150–161.

Chapman, P.M., Wang, F., Caeiro, S.S., **2013**. Assessing and managing sediment contamination in transitional waters. *Environ. Int.* 55, 71–91.

Charlier, J.B., Patrick Lachassagne, Bernard Ladouche, B., Cattan, P., Moussa, R., Voltz, M., **2011**. Structure and hydrogeological functioning of an insular tropical humid andesitic volcanic watershed: A multi-disciplinary experimental approach. *J. Hydrol.* 398, 155–170.

Chen, H., Chen, S., Quan, X., Zhao, Y., Zhao, H., **2009**. Sorption of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on oil and oil-derived black carbon: Influence of solution pH and [Ca²⁺]. *Chemosphere* 77, 1406–1411.

Chen, H., Zhang, C., Han, J., Yu, Y., Zhang, P., **2012**. PFOS and PFOA in influents, effluents, and biosolids of Chinese wastewater treatment plants and effluent-receiving marine environments. *Environ. Pollut.* 170, 26–31.

Chen, H., Zhang, C., Yu, Y., Han, J., **2012**. Sorption of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on marine sediments. *Mar. Pollut. Bull.* 64, 902–906.

Chen, X., Zhu, L., Pan, X., Fang, S., Zhang, Y., Yang, L., **2015**. Isomeric specific partitioning behaviors of perfluoroalkyl substances in water dissolved phase, suspended particulate matters and sediments in Liao River Basin and Taihu Lake, China. *Water Res.* 80, 235–244.

Chirikona, F., Filipovic, M., Ooko, S., Orata, F., **2015**. Perfluoroalkyl acids in selected wastewater treatment plants and their discharge load within the Lake Victoria basin in Kenya. *Environ. Monit. Assess.*, 187, 1–12.

Cho, C.R., Lam, N.H., Cho, B.M., Kannan, K., Cho, H.S., **2015**. Concentration and correlations of perfluoroalkyl substances in whole blood among subjects from three different geographical areas in Korea. *Sci. Total Environ.* 512–513, 397–405.

Chu, S., Wang, J., Leong, G., Woodward, L.A., Letcher, R.J., Li, Q.X., **2015**. Perfluoroalkyl sulfonates and carboxylic acids in liver, muscle and adipose tissues of black-footed albatross (*Phoebastria nigripes*) from Midway Island, North Pacific Ocean. *Chemosphere* 138, 60–66.

Clara, M., Gans, O., Weiss, S., Sanz-Escribano, D., Scharf, S., Scheffknecht, C., **2009**. Perfluorinated alkylated substances in the aquatic environment: An Austrian case study. *Water Res.* 43, 4760–4768.

Coat, S., Monti, D., Legendre, P., Bouchon, C., Massat, F., Lepoint, G., **2011**. Organochlorine pollution in tropical rivers (Guadeloupe): Role of ecological factors in food web bioaccumulation. *Environ. Pollut.* 159, 1692–1701.

Conder, J.M., Hoke, R.A., de Wolf, W., Russell, M.H., Buck, R.C., **2008**. Are PFCA's bioaccumulative? A critical review and comparison with regulatory criteria and persistent lipophilic compounds. *Environ. Sci. Technol.* 42, 995–1003.

Couderc, M., Poirier, L., Zalouk-Vergnoux, A., Kamari, A., Blanchet-Letrouvé, I., Marchand, P., Vénisseau, A., Veyrand, B., Mouneyrac, C., Le Bizec, B., **2015**. Occurrence of POPs and other persistent organic contaminants in the European eel (*Anguilla anguilla*) from the Loire estuary, France. *Sci. Total Environ.* 505, 199–215.

Corcoll, N., Acuña, V., Barceló, D., Casellas, M., Guasch, H., Huerta, B., Petrovic, M., Ponsatí, L., Rodríguez-Mozaz, S., Sabater, S., **2014**. Pollution-induced community tolerance to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in fluvial biofilm communities affected by WWTP effluents. *Chemosphere* 112, 185–193.

Corsolini, S., Guerranti, C., Perra, G., Focardi, S., **2008**. Polybrominated Diphenyl Ethers, Perfluorinated Compounds and Chlorinated Pesticides in Swordfish (*Xiphias gladius*) from the Mediterranean Sea. *Environ. Sci. Technol.* 42, 4344–4349.

Corsolini, S., Sarkar, S.K., Guerranti, C., Bhattacharya, B.D., Rakshit, D., Jonathan, M.P., Godhantaraman, N., **2012**. Perfluorinated compounds in surficial sediments of the Ganges River and adjacent Sundarban mangrove wetland, India. *Marine Poll. Bull.* 64, 2829–2833.

Cottez, S., Thibaut, P.M., **1973**. Recherche d'eaux souterraines dans le bassin de la rivière Monsieur (Martinique). Bureau de Recherches Géologiques et Minières (BRGM), rapport 73 ANT 23 (URL: <<http://infoterre.brgm.fr/rapports/73-ANT-023.pdf>>).

Cruz, J., **2015**. Etude de la contamination par les pesticides des milieux eau, air et sols. Développement de nouveaux outils et application à l'estuaire de la Gironde. Thèse de Doctorat.

Cruz, J., Botta, F., Giraudel, J.L., Le Ménach, K., Dévier, M.H., Budzinski, H., **2015**. Occurrence of fipronil and its metabolites in French surface waters. *Submitted to Chemosphere*.

Czuczwa, J.M., Hites, R.A., **1984**. Environmental fate of combustion-generated polychlorinated dioxins and furans. *Environ. Sci. Technol.* 18, 444–450.

D

D'Agostino, L.A., Mabury, S.A., **2014**. Identification of novel fluorinated surfactants in aqueous film forming foams and commercial surfactant concentrates. *Environ. Sci. Technol.* 48, 121–129.

D'Agostino, L.A., Mabury, S.A. Wastewater treatment plant sludge biodegradation of two fluorotelomer surfactants found in aqueous film forming foams. *Fluoros 2015 Conference*.

Dauchy, X., Boiteux, V., Rosin, C., Munoz, J.F., **2012**. Relationship between industrial discharges and contamination of raw water resources by perfluorinated compounds. Part I: case-study of a fluoropolymer manufacturing plant. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 89, 525–530.

David, V., Sautour, B., Chardy, P., Leconte, M., **2005**. Long-term changes of the zooplankton variability in a turbid environment: the Gironde estuary (France). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 64, 171–184.

David, V., Sautour, B., Galois, R., Chardy, P., **2006**. The paradox high zooplankton biomass–low vegetal particulate organic matter in high turbidity zones: What way for energy transfer? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 333, 202–218.

Denys, S., Fraize-Frontier, S., Moussa, O., Le Bizec, B., Veyrand, B., Volatier, J.L., **2014**. Is the fresh water fish consumption a significant determinant of the internal exposure to perfluoroalkylated substances (PFAS)? *Toxicol. Lett.* 231, 233–238.

D'Eon, J.C., Crozier, P.W., Furdui, V.I., Reiner, E.J., Libelo, E.L., Mabury, S.A., **2009**. Perfluorinated phosphoric acids in Canadian surface waters and wastewater treatment plant effluent: discovery of a new class of perfluorinated acids. *Environ. Toxicol. Chem.* 28, 2101–2107.

D'Eon, J.C., **2010**. Exploring sources of human and environmental fluorochemical contamination. PhD Thesis, 400 pp.

Desgranges, N., **2015**. Développement d'échantillonneurs passifs de type POCIS pour l'évaluation de la contamination en pesticides des eaux de bassins versants languedociens. Thèse de Doctorat.

De Silva, A.O., Mabury, S.A., **2006**. Isomer distribution of perfluorocarboxylates in human blood: potential correlation to source. *Environ. Sci. Technol.* 40, 2903–2909.

De Silva, A.O., Spencer, C., Scott, B.F., Backus, S., Muir, D.C.G., **2011**. Detection of a cyclic perfluorinated acid, perfluoroethylcyclohexane sulfonate, in the Great Lakes of North America. *Environ. Sci. Technol.* 45, 8060–8066.

De Solla, S.R., De Silva, O., Letcher, R.J., **2012**. Highly Elevated Levels of Perfluorooctane Sulfonate and Other Perfluorinated Acids Found in Biota and Surface Water Downstream of an International Airport, Hamilton, Ontario, Canada. *Environ. Int.* 39, 19–26.

de Voogt, P., Sáez, M., **2006**. Analytical chemistry of perfluoroalkylated substances. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 25, 326–342.

De Vos, M.G., Huijbregts, M.A.J., van den Heuvel-Greve, M.J., Vethaak, A.D., Van de Vijver, K.I., Leonards, P.E.G., van Leeuwen, S.P.J., de Voogt, P., Hendriks, A.J., **2008**. Accumulation of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in the food chain of the Western Scheldt estuary: Comparing field measurements with kinetic modeling. *Chemosphere* 70, 1766–1773.

Delinsky, A.D., Strynar, M.J., Nakayama, S.F., Varns, J.L., Ye, X., McCann, P.J., Lindstrom, A.B., **2009**. Determination of ten perfluorinated compounds in bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*) filets. *Environ. Res.* 109, 975–984.

Dew, W.A., Hontela, A., Rood, S.B., Pyle, G.G., **2015**. Biological effects and toxicity of diluted bitumen and its constituents in freshwater systems. *J. Appl. Toxicol.*, in press (DOI: 10.1002/jat.3196).

Dietz, R., Rigét, F.F., Galatius, A., Sonne, C., Teilmann, J., Bossi, R., **2012**. Spatial trends of perfluorochemicals in harbor seals (*Phoca vitulina*) from Danish waters. *Sci. Total Environ.* 414, 732–737.

Dinglasan-Panlilio, M.J., Prakash, S.S., Baker, J.E., **2014**. Perfluorinated compounds in the surface waters of Puget Sound, Washington and Clayoquot and Barkley Sounds, British Columbia. *Marine Poll. Bull.* 78, 173–180.

Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. Available online at eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:32013L0039, accessed 2015/09/14.

Dirzo, R., Young, H.S., Galetti, M., Ceballos, G., Isaac, N.J.B., Collen, B., **2014**. Defaunation in the Anthropocene. *Science* 345, 401–406.

Døelsch, E., Van de Kerchove, V., Saint Macary, H. **2006**. Heavy metal content in soils of Reunion (Indian Ocean). *Geoderma* 134, 119–134.

Dolbier Jr., W.R., **2005**. Fluorine chemistry at the millennium. *J. Fluor. Chem.* 126, 157–163.

Domingo, J.L., **2012**. Health risks of dietary exposure to perfluorinated compounds. *Environ. Int.* 40, 187–195.

Drottler, K.R., VanHoven, R.L., Krueger, H.O., **2001**. Perfluorooctanesulfonate, potassium salt (PFOS): A flow-through bioconcentration test with the bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Wildlife International, Ltd. Project*, 454A-134.

Du, B., Haddad, S.P., Scott, W.C., Chambliss, C.K., Brooks, B.W., **2015**. Pharmaceutical bioaccumulation by periphyton and snails in an effluent-dependent stream during an extreme drought. *Chemosphere* 119, 927–934.

Dufková, V., Cabala, R., Maradová, D., Stícha, M., **2009**. A fast derivatization procedure for gas chromatographic analysis of perfluorinated organic acids. *J. Chromatogr. A*, 1216, 8659–8664.

Duong, H.T., Kadokami, K., Shirasaka, H., Hidaka, R., Chau, H.T.C., Kong, L., Nguyen, T.Q., Nguyen, T.T., **2015**. Occurrence of perfluoroalkyl acids in environmental waters in Vietnam. *Chemosphere* 122, 115–124.

E

Ehresman, D.J., Froehlich, J.W., Olsen, G.W., Chang, S.C., Butenhoff, J.L., **2007**. Comparison of human whole blood, plasma, and serum matrices for the determination of perfluorooctanesulfonate (PFOS), perfluorooctanoate (PFOA), and other fluorochemicals. *Environ. Res.* 103, 176–184.

Ellis, D.A., Martin, J.W., De Silva, A.O., Mabury, S.A., Hurley, M.D., Sulbaek Andersen, M.P., Wallington, T.J., **2004**. Degradation of fluorotelomer alcohols: a likely atmospheric source of perfluorinated carboxylic acids. *Environ. Sci. Technol.* 38, 3316–3321.

Environment Canada, **2013**. Perfluorooctane Sulfonate in the Canadian Environment. Report no En14-96/2013E-PDF, ISBN 978-1-100-22426-8, 25 p. Available online at www.ec.gc.ca/toxiques-toxics/default.asp?lang=En&n=7331A46C-1, accessed 2015/09/14.

ERAP Working Group, **2014**. *Report and Recommendations of the Transportation of Dangerous Goods, General Policy Advisory Council (GPAC), Emergency Response Assistance Plan (ERAP) Working Group, Relating to Class 3 Flammable Liquids*. Available online at www.tc.gc.ca/media/documents/tdg-eng/5807-2014-3477-F-BT8821720-ERAP-WG-Report-and-Recommendations-FINAL-21-en-rev-AAA-rev.pdf, accessed 2015/09/11.

Ericson, I., Gómez, M., Nadal, M., van Bavel, B., Lindström, G., Domingo, J.L., **2007**. Perfluorinated chemicals in blood of residents in Catalonia (Spain) in relation to age and gender: a pilot study. *Environ. Int.* 33, 616–623.

Eschauzier, C., Raat, K.J., Stuyfzand, P.J., De Voogt, P. **2013**. Perfluorinated alkylated acids in groundwater and drinking water: Identification, origin and mobility. *Sci. Total Environ.* 477–485.

Esparza X., Moyano E., De Boer J., Galceran M.T., Van Leeuwen S.P.J., **2011**. Analysis of perfluorinated phosphonic acids and perfluorooctane sulfonic acid in water, sludge and sediment by LC–MS/MS. *Talanta* 86, 329–336.

European Council, **2000**. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for community action in the field of water policy. OJL.327, 22 December 2000, 1–73.

F

Fair, P.A., Houde, M., Hulse, T.C., Bossart, G.D., Adams, J., Balthis, L., Muir, D.C.G., **2012**. Assessment of perfluorinated compounds (PFCs) in plasma of bottlenose dolphins from two southeast US estuarine areas: relationship with age, sex and geographic locations. *Mar. Pollut. Bull.* 64, 66–74.

Fang, S., Chen, X., Zhao, S., Zhang, Y., Jiang, W., Yang, L., Zhu, L., **2014a**. Trophic magnification and isomer fractionation of perfluoroalkyl substances in the food web of Taihu Lake, China. *Environ. Science Technol.* 48, 2173–2182.

Fang, S., Zhao, S., Zhang, Y., Zhong, W., Zhu, L. **2014b**. Distribution of perfluoroalkyl substances (PFASs) with isomer analysis among the tissues of aquatic organisms in Taihu Lake, China. *Environ. Pollut.* 193, 224–232.

Farré, M., Picó, Y., Barceló, D., **2014**. Application of ultra-high pressure liquid chromatography linear ion-trap orbitrap to qualitative and quantitative assessment of pesticide residues. *J. Chromatogr. A.*, 1328, 66–79.

Fayad, P.B., Prévost, M., Sauvé, S., **2010**. Laser Diode Thermal Desorption/Atmospheric Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry Analysis of Selected Steroid Hormones in Wastewater: Method Optimization and Application. *Anal. Chem.*, 82, 639–645.

Fechner, L.C., **2010**. Acquisition de tolérance et modification de structure des communautés périphytiques : une réponse précoce à la pression urbaine dans les milieux aquatiques. Thèse de Doctorat.

Fechner, L.C., Gourlay-Francé C., Tusseau-Vuillemin, M.H., **2014**. Linking community tolerance and structure with low metallic contamination: A field study on 13 biofilms sampled across the Seine river basin. *Water Res.* 51, 152–162.

Field, J.A., Reed, R.L., **1996**. Nonylphenol polyethoxy carboxylate metabolites of nonionic surfactants in US paper mill effluents, municipal sewage treatment plant effluents, and river waters. *Environ. Sci. Technol.* 30, 3544–3550.

Filipovic, M., Woldegiorgis, A., Norström, K., Bibi, M., Lindberg, M., Österås, A.H., **2015**. Historical usage of aqueous film forming foam: A case study of the widespread distribution of perfluoroalkyl acids from a military airport to groundwater, lakes, soils and fish. *Chemosphere* 129, 39–45.

Fisk, A.T., Norstrom, R.J., Cymbalisty, C.D., Muir, D.C.G., **1998**. Dietary accumulation and depuration of hydrophobic organochlorines: bioaccumulation parameters and their relationship with the octanol/water partition coefficient. *Environ. Toxicol. Chem.* 17, 951–961.

Flanary, J.R., Reiner, J.L., Helke, K.L., Kucklick, J.R., Gulland, F.M., Becker, P.R., **2012**. Measurements of perfluorinated compounds in plasma of northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) and a preliminary assessment of their relationship to peroxisome proliferation and blood chemistry parameters. *Reprod. Toxicol.* 33, 601.

Flores, C., Ventura, F., Martin-Alonso, J., Caixach, J., **2013**. Occurrence of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in N.E. Spanish surface waters and their removal in a drinking water treatment plant that combines conventional and advanced treatments in parallel lines. *Sci. Total Environ.* 461–462, 618–626.

Foster, K.L., Stern, G.A., Pazerniuk, M.A., Hickie, B., Walkusz, W., Wang, F., Macdonald, R.W., **2012**. Mercury biomagnification in marine zooplankton food webs in Hudson Bay. *Environ. Sci. Technol.* 46, 12952–12959.

Fried, J., Sabo, E.F., **1954**. 9 α -Fluoro derivatives of cortisone and hydrocortisone. *Journal of the American Chemical Society* 76, 1455–1456.

Fromme, H., Midasch, O., Twardella, D., Angerer, J., Boehmer, S., Liebl, B., **2007**. Occurrence of perfluorinated substances in an adult German population in southern Bavaria. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 80, 313–319.

Fu, Y., Wang, T., Wang, P., Fu, Q., Lu, Y., **2014**. Effects of age, gender and region on serum concentrations of perfluorinated compounds in general population of Henan, China. *Chemosphere* 110, 104–110.

G

Gadel, F., Jouanneau, J.M., Weber, O., Serve, L., Comellas, L., **1997**. Traceurs organiques dans les dépôts de la vasière Ouest-Gironde (Golfe de Gascogne). *Oceanol. Acta* 20, 687–695.

Galatius, A., Bossi, R., Sonne, C., Rigét, F.F., Kinze, C.C., Lockyer, C., Teilmann, J., Dietz, R., **2013**. PFAS profiles in three North Sea top predators: metabolic differences among species?. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 8013–8020.

Gallen, C., Baduel, C., Lai, F.Y., Thompson, K., Thompson, J., Warne, M., Mueller, J.F., **2014**. Spatio-temporal assessment of perfluorinated compounds in the Brisbane River system, Australia: Impact of a major flood event. *Marine Poll. Bull.* 85, 597–605.

Galvez-Cloutier, R., Guesdon, G., Fonchain, A., **2014**. Lac-Mégantic: analyse de l'urgence environnementale, bilan et évaluation des impacts. *Can. J. Civil. Eng.* 41, 531–539.

Gao, Y., Fu, J., Zeng, L., Li, A., Li, H., Zhu, N., Liu, R., Liu, A., Wang, Y., Jiang, G., **2014**. Occurrence and fate of perfluoroalkyl substances in marine sediments from the Chinese Bohai Sea, Yellow Sea, and East China Sea. *Environ. Pollut.* 194, 60–68.

Gasperi, J., Garnaud, S., Rocher, V., Moilleron, R., **2009**. Priority pollutants in surface waters and settleable particles within a densely urbanised area: Case study of Paris (France). *Sci. Total Environ.* 407, 2900–2908.

Gebbink, W.A., Letcher, R.J., **2012**. Comparative tissue and body compartment accumulation and maternal transfer to eggs of perfluoroalkyl sulfonates and carboxylates in Great Lakes herring gulls. *Environ. Pollut.* 162, 40–47.

Gellrich, V., Brunn, H., Stahl, T., **2013**. Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in mineral water and tap water. *J. Environ. Sci. Health. Part A*, 48, 129–135.

Gerbersdorf, S.U., Cimadoribus, C., Class, H., Engesser, K.H., Helbich, S., Hollert, H., Lange, C., Kranert, M., Metzger, J., Nowak, W., Seiler, T.B., Steger, K., Steinmetz, H., Wieprecht, S., **2015**. Review. Anthropogenic Trace Compounds (ATCs) in aquatic habitats — Research needs on sources, fate, detection and toxicity to ensure timely elimination strategies and risk management. *Environ. Int.* 79, 85–105.

Gewurtz, S.B., Backus, S.M., De Silva, A.O., Ahrens, L., Armellin, A., Evans, M., Fraser, S., Gledhill, M., Guerra, P., Harner, T., Helm, P.A., Hung, H., Khera, N., Kim, M.G., King, M., Lee, S.C., Letcher, R.J., Martin, P., Marvin, C., McGoldrick, D.J., Myers, A.L., Pelletier, M., Pomeroy, J., Reiner, E.J., Rondeau, M., Sauve, M.C., Sekela, M., Shoeib, M., Smith, D.W., Smyth, S.A., Struger, J., Spry, D., Syrgiannis, J., Waltho, J., **2013**. Perfluoroalkyl acids in the Canadian environment: Multi-media assessment of current status and trends. *Environ. Int.*, 59, 183–200.

Gewurtz, S.B., Bhavsar, S.P., Petro, S., Mahon, C.G., Zhao, X., Morse, D., Reiner, E.J., Tittlemier, S.A., Braekevelt, E., Drouillard, K., **2014**. High levels of perfluoroalkyl acids in sport fish species downstream of a firefighting training facility at Hamilton International Airport, Ontario, Canada. *Environ. Int.* 67, 1–11.

Giesy, J. P., and Kannan, K., **2001**. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environ. Sci. Technol.* 35, 1339–1342.

Giesy, J.P., Naile, J.E., Khim, J.S., Jones, P.D., Newsted, J.L., **2010**. Aquatic toxicology of perfluorinated chemicals. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Ed. David M. Whitacre, Springer.

Giger, W., **2009**. The Rhine red, the fish dead – the 1986 Schweizerhalle disaster, a retrospect and long-term impact assessment. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 16, 98–111.

Gilliland, F.D., Mandel, J.S., **1996**. Serum perfluorooctanoic acid and hepatic enzymes, lipoproteins, and cholesterol: a study of occupationally exposed men. *American Journal of Industrial Medicine* 29, 560–568.

Giraudel, J.L., Lek, S., **2001**. A comparison of self-organizing map algorithm and some conventional statistical methods for ecological community ordination. *Ecol. Model.* 146, 329–339.

Glynn, A., Berger, U., Bignert, A., Ullah, S., Aune, M., Lignell, S., Darnerud, P.O., **2012**. Perfluorinated alkyl acids in blood serum from primiparous women in Sweden: serial sampling during pregnancy and nursing, and temporal trends 1996–2010. *Environ. Sci. Technol.* 46, 9071–9079.

Gobas, F.A.P.C., de Wolf, W., Burkhard, L.P., Verbruggen, E., Plotzke, K., **2009**. Revisiting bioaccumulation criteria for POPs and PBT assessments. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 5, 624–636.

Golder Associés, **2014**. *Rapport de caractérisation de la rivière Chaudière*. Rapport présenté au Ministère Développement Durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs. Direction

régionale du Centre de contrôle environnemental de la Capitale-Nationale et de la Chaudière-Appalaches, 75p.

Gómez, C., Vicente, J., Echavarri-Erasun, B., Porte, C., Lacorte, S., **2011**. Occurrence of perfluorinated compounds in water, sediment and mussels from the Cantabrian Sea (North Spain). *Mar. Pollut. Bull.* 62, 948–955.

Gonzalez, L., van Canneyt, O., Dabin, W., **2009**. *La fréquentation par les mammifères marins de l'estuaire de la Gironde et de son panache*. Actes du 1^{er} Carrefour Scientifique de l'Estuaire. Royan, 11 Juillet 2009.

González-Gaya, B., Dachs, J., Roscales, J.L., Caballero, G., Jiménez, B., **2014**. Perfluoroalkylated substances in the global tropical and subtropical surface oceans. *Environ. Sci. Technol.* 48, 13076–13084.

Gosetti, F., Chiuminatto, Zampieri, D., Mazzucco, E., Robotti, E., Calabrese, G., Gennaro, M.C., Marengo, E., **2010**. Determination of perfluorochemicals in biological, environmental and food samples by an automated on-line solid phase extraction ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method. *J. Chromatogr. A* 1217, 7864–7872.

Greaves, A.K., Letcher, R.J., **2013**. Linear and branched perfluorooctane sulfonate (PFOS) isomer patterns differ among several tissues and blood of polar bears. *Chemosphere* 93, 574–580.

Griffith, F.D., Long, J.E., **1980**. Animal toxicity studies with ammonium perfluorooctanoate. *The American Industrial Hygiene Association Journal* 41, 576–583.

Gribble, G.W., **2003**. The diversity of naturally produced organohalogens. *Chemosphere* 52, 289–297.

Guelfo, J.L., Higgins, C.P., **2013**. Subsurface transport potential of perfluoroalkyl acids at aqueous film-forming foam (AFFF)-impacted sites. *Environ. Sci. Technol.* 47, 4164–4171.

Guerra, P., Kim, M., Kinsman, L., Ng, T., Alaei, M., Smyth, S.A., **2014**. Parameters affecting the formation of perfluoroalkyl acids during wastewater treatment. *J. Hazard. Mat.* 272, 148–154.

Guerranti, C., Ancora, S., Bianchi, N., Perra, G., Fanello, E.L., Corsolini, S., Fossi, M.C., Focardi, S.E., **2013**. Perfluorinated compounds in blood of *Caretta caretta* from the Mediterranean Sea. *Mar. Pollut. Bull.* 73, 98–101.

Guo, F., Zhong, Y., Wang, Y., Li, J., Zhang, J., Liu, J., Zhao, Y., Wu, Y., **2011**. Perfluorinated compounds in human blood around Bohai Sea, China. *Chemosphere* 85, 156–162.

Guo, R., Sim, W.J., Lee, E.S., Lee, J.H., Oh, J.E., **2010**. Evaluation of the fate of perfluoroalkyl compounds in wastewater treatment plants. *Water Res.* 44, 3476–3486.

Guruge, K.S., Taniyasu, S., Yamashita, N., Wijeratna, S., Mohotti, K.M., Seneviratne, H.R., Kannan, K., Yamanaka, N., Miyazaki, S., **2005**. Perfluorinated organic compounds in human blood serum and seminal plasma: a study of urban and rural tea worker populations in Sri Lanka. *J. Environ. Monit.* 7, 371–377.

Guy, W.S., Taves, D.R., Brey, W.S., **1976**. *Biochemistry Involving Carbon-Fluorine Bonds*, pp. 117–134, ACS, Washington D.C.

H

Hanhijärvi, H., Ophaug, R.H., Singer, L., **1982**. The sex-related difference in perfluorooctanoate excretion in the rat. *Experimental Biology and Medicine* 171, 50–55.

Hansen, K.J., Clemen, L.A., Ellefson, M.E., Johnson, H.O., **2001**. Compound-specific, quantitative characterization of organic: fluorochemicals in biological matrices. *Environ. Sci. Technol.* 35, 766–770.

Hansen, K.J., Johnson, H.O., J.S. Eldridge, Butenhoff, J.L., Dick, L.A., **2002**. Quantitative characterization of trace levels of PFOS and PFOA in the Tennessee River. *Environ. Sci. Technol.*, 36, 1681–1685.

Hanssen, L., Röllin, H., Odland, J.Ø., Moe, M.K., Sandanger, T.M., **2010**. Perfluorinated compounds in maternal serum and cord blood from selected areas of South Africa: results of a pilot study. *J. Environ. Monit.* 12, 1355–1361.

Hart, K., Kannan, K., Isobe, T., Takashani, S., Yamada, T., Miyazaki, A., Tanabe, S., **2008**. Time trends and transplacental transfer of perfluorinated compounds in melon-headed whales stranded along the Japanese coast in 1982, 2001/2002, and 2006. *Environ. Sci. Technol.* 42, 7132–7137.

Haug, L.S., Huber, S., Schlabach, M., Becher, G., Thomsen, C., **2011**. Investigation on per- and fluorinated compounds in paired samples of house dust and indoor air from Norwegian homes. *Environ. Sci. Technol.* 45, 7991–7998.

Haug, L.S., Thomsen, C., Becher, G., **2009**. A sensitive method for determination of a broad range of perfluorinated compounds in serum suitable for large-scale human biomonitoring. *J. Chromatogr. A* 1216, 385–393.

Haug, L. S., Thomsen, C., Becher, G., **2009**. Time trends and the influence of age and gender on serum concentrations of perfluorinated compounds in archived human samples. *Environ. Sci. Technol.* 43, 2131–2136.

Haughom, B., Spydevold, Ø., **1992**. The mechanism underlying the hypolipemic effect of perfluorooctanoic acid (PFOA), perfluorooctane sulphonic acid (PFOSA) and clofibrilic acid. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism* 1128, 65–72.

Haukas, M., Berger, U., Hop, H., Gulliksen, B., Gabrielsen, G.W., **2007**. Bioaccumulation of per- and polyfluorinated alkyl substances (PFAS) in selected species from the Barents Sea food web. *Environ. Pollut.* 148, 360–371.

Headley, J.V., Gandrass, J., Kuballa, J., Peru, K.M., Gong, Y., **1998**. Rates of sorption and partitioning of contaminants in river biofilm. *Environ. Sci. Technol.* 32, 3968–3973.

Hekster, F.M., Laane, R.W., de Voogt, P., **2003**. Environmental and toxicity effects of perfluoroalkylated substances. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (pp. 99–121). Springer New York.

Helsel, D.R., **1990**. Less than obvious-statistical treatment of data below the detection limit. *Environ. Sci. Technol.* 24, 1766–1774.

Helsel, D.R., **2005**. More than obvious: better methods for interpreting nondetect data. *Environ. Sci. Technol.* 39, 419–423.

Helsel, D.R., **2006**. Fabricating Data: How Substituting Values for Nondetects Can Ruin Results, and What Can Be Done about It. *Chemosphere* 65, 2434–2439.

Helsel, D.R., **2012**. Statistics for Censored Environmental Data Using Minitab and R, 2nd ed. Wiley.

Hennion, M.C., **1999**. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 856, 3–54.

Henry, H., Sobhi, H.R., Scheibner, O., Bromirski, M., Nimkar, S.B., Rochat, B., **2012**. Comparison between a high-resolution single-stage Orbitrap and a triple quadrupole mass spectrometer for quantitative analyses of drugs. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 26, 499–509.

Heudi, O., Barteau, S., Picard, P., Tremblay, P., Picard, F., Kretz, O., **2011**. Laser diode thermal desorption-positive mode atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry for the ultra-fast quantification of a pharmaceutical compound in human plasma. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 54, 1088–1095.

Higgins, C.P., Field, J.A., Criddle, C.S., Luthy, R.G., **2005**. Quantitative Determination of Perfluorochemicals in Sediments and Domestic Sludge. *Environ. Sci. Technol.* 39, 3946–3956.

Higgins, C.P., Luthy, R.G., **2006**. Sorption of Perfluorinated Surfactants on Sediments. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7251–7256.

Higgins, C.P., McLeod, P.B., MacManus-Spencer, L.A., Luthy, R.G., **2007**. Bioaccumulation of perfluorochemicals in sediments by the aquatic oligochaete *Lumbriculus variegatus*. *Environ. Sci. Technol.* 41, 4600–4606.

Hloušková, V., Lanková, D., Kalachová, K., Hrádková, P., Poustka, J., Hajšlová, J., Pulkrabová, J., **2014**. Brominated flame retardants and perfluoroalkyl substances in sediments from the Czech aquatic ecosystem. *Sci. Total Environ.* 470–471, 407–416.

Hoke, R.A., Ferrell, B.D., Ryan, T., Sloman, T.L., Green, J.W., Nabb, D.L., Mingoia, R., Buck, R.C., Korzeniowski, S., **2015**. Aquatic hazard, bioaccumulation and screening risk assessment for 6:2 fluorotelomer sulfonate. *Chemosphere* 128, 258–265.

Holland, H.D., **2002**. Volcanic gases, black smokers, and the Great Oxidation Event. *Geochim. Cosmochim. Acta* 66, 3811–3826.

Holmström, K.E., Järnberg, U., Bignert, A., **2005**. Temporal trends of PFOS and PFOA in guillemot eggs from the Baltic Sea, 1968–2003. *Environ. Sci. Technol.* 39, 80–84.

Homsy, G.M., **1987**. Viscous fingering in porous media. *Ann. Rev. Fluid Mech.* 19, 271–311.

Hong, S., Khim, J.S., Park, J., Kim, M., Kim, W.K., Jung, J., Hyun, S., Kim, J.G., Lee, H., Choi, H.J., Codling, G., Giesy, J.P., **2013**. In situ fate and partitioning of waterborne perfluoroalkyl acids (PFAAs) in the Youngsan and Nakdong River Estuaries of South Korea. *Sci. Total Environ.* 445–446, 136–145.

Hong, S., Khim, J.S., Wang, T., Naile, J.E., Park, J., Kwon, B.O., Song, S.J., Ryu, J., Codling, G., Jones, P.D., Lu, Y., Giesy, J.P., **2015**. Bioaccumulation characteristics of perfluoroalkyl acids (PFAAs) in coastal organisms from the west coast of South Korea. *Chemosphere* 129, 157–163.

Houde, M., Bujas, T.D., Small, J., Fair, P., Bossart, G.D., Solomon, K., Muir, D.C.G., **2006b**. Biomagnification of perfluoroalkyl compounds in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) food web. *Environ. Sci. Technol.* 40, 4138–4144.

Houde, M., Martin, J.W., Letcher, R.J., Solomon, K., Muir, D.C.G., **2006a**. Biological Monitoring of Polyfluoroalkyl Substances: A Review. *Environ. Sci. Technol.*, 40, 3463–3473.

Houde, M., Czub, G., Small, J.L., Backus, S., Wang, X., Alae, M., Muir, D.C.G., **2008**. Fractionation and bioaccumulation of perfluorooctane sulfonate (PFOS) isomers in a lake Ontario food web. *Environ. Sci. Technol.* 42, 9397–9403.

Houde M., Muir, D.C.G., Kidd, K., Guildford, S., Drouillard, K., Evans, M., Wang, X., Whittle, M., Haffner, D., Kling, H., **2008**. Influence of lake characteristics on the biomagnification of persistent organic pollutants in lake trout and their food webs. *Environ. Toxicol. Chem.* 27, 2169–2178.

Houde, M., De Silva, A.O., Muir, D.C.G., Letcher, R.J., **2011**. Monitoring of Perfluorinated Compounds in Aquatic Biota: An Updated Review PFCs in Aquatic Biota. *Environ. Sci. Technol.* 45, 7962–7973.

Houtz, E.F., Sedlak, D.L., **2012**. Oxidative conversion as a means of detecting precursors to perfluoroalkyl acids in urban runoff. *Environ. Sci. Technol.* 46, 9342–9349.

Houtz, E.F., Higgins, C.P., Field, J.A., Sedlak, D.L., **2013**. Persistence of perfluoroalkyl acid precursors in AFFF-impacted groundwater and soil. *Environ. Sci. Technol.* 47, 8187–8195.

Hu, W., Jones, P.D., Upham, B.L., Trosko, J.E., Lau, C., Giesy, J.P., **2002**. Inhibition of gap junctional intercellular communication by perfluorinated compounds in rat liver and dolphin kidney epithelial cell lines in vitro and Sprague-Dawley rats in vivo. *Toxicol. Sci.* 68, 429–436.

Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., Parlanti, E., **2009**. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Org. Geochem.* 40, 706–719.

Huston, C., Juarez-Colunga, E., **2009**. Guidelines for computing summary statistics for datasets containing non-detects.

I

Inoue, K., Okada, F., Ito, R., Kato, S., Sasaki, S., Nakajima, S., Uno, A., Saijo, Y., Sata, F., Yoshimura, Y. **2004a**. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and related perfluorinated compounds in human maternal and cord blood samples: Assessment of PFOS exposure in a susceptible population during pregnancy. *Environ. Health Persp.* 112, 1204–1207.

Inoue, K., Okada, F., Ito, R., Kawaguchi, M., Okanouchi, N., Nakazawa, H., **2004b**. Determination of perfluorooctane sulfonate, perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonylamide in human plasma by column-switching liquid chromatography-electrospray mass spectrometry coupled with solid-phase extraction. *J. Chromatogr. B* 810, 49–56.

J

Jahnke, A., Berger, U., **2009**. Trace analysis of per- and polyfluorinated alkyl substances in various matrices—How do current methods perform?. *J. Chromatogr. A* 1216, 410–421.

Jardine, T.D., Kidd, K.A., Fisk, A.T., **2006**. Applications, considerations, and sources of uncertainty when using stable isotope analysis in ecotoxicology. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7501–7511.

Jardine, T.D., Kidd, K.A., O'Driscoll, N., **2013**. Food web analysis reveals effects of pH on mercury bioaccumulation at multiple trophic levels in streams. *Aquatic Toxicol.* 132–133, 46–52.

Jaspers, V.L.B., Herzke, D., Eulaers, I., Gillespie, B.W., Eens, M., **2013**. Perfluoroalkyl Substances in Soft Tissues and Tail Feathers of Belgian Barn Owls (Tyto Alba) Using Statistical Methods for Left-Censored Data to Handle Non-Detects. *Environ. Int.* 52, 9–16.

Jeon, J., Kannan, K., Lim, H.K., Moon, H.B., Ra, J.S., Kim, S.D., **2010**. Bioaccumulation of perfluorochemicals in pacific oyster under different salinity gradients. *Environ. Sci. Technol.* 44, 2695–2701.

Jeon, J., Kannan, K., Lim, B.J., An, K.G., Kim, S.D., **2011**. Effects of salinity and organic matter on the partitioning of perfluoroalkyl acid (PFAs) to clay particles. *J. Environ. Monit.* 13, 1803–1810.

Jho, C.H., Loh, Y., Mueller, K.F., **1996**. Low viscosity polar-solvent fire-fighting foam compositions. U.S. Patent No. 5,496,475, March 5, 1996.

Johansen, E., Taves, D.R., Olsen, T.O., **1979**. Continuing evaluation of the use of fluorides. Published by Westview Press for the American Association for the Advancement of Science.

Johnson, J.D., Gibson, S.J., Ober, R.E., **1979**. Extent and route of excretion and tissue distribution of total carbon-14 in rats after a single dose of FC-95-14C. Riker Laboratories, Inc., St Paul, MN, US EPA.

Johnson, J.D., Gibson, S.J., Ober, R.E., **1984**. Cholestyramine-enhanced fecal elimination of carbon-14 in rats after administration of ammonium [¹⁴C] perfluorooctanoate or potassium [¹⁴C] perfluorooctanesulfonate. *Toxicological Sciences* 4, 972–976.

Joiner, B.L., **1981**. Lurking Variables: Some Examples. *Am. Stat.* 35, 227–233.

Jones, P.D., Hu, W., De Coen, W., Newsted, J.L., Giesy, J.P., **2003**. Binding of perfluorinated fatty acids to serum proteins. *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 2639–2649.

Jouanneau, J.M., Latouche, C., **1981**. The Gironde Estuary, pp.1–115. In Fürchtbauer, H., Lisitzyn, A.P., Millerman, J.D., Seibold, E. [eds.], Contribution to sedimentology 10. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

Jourdil, J.F., Picard, P., Meunier, C., Auger, S., Stanke-Labesque, F., **2013**. Ultra-fast cyclosporin A quantitation in whole blood by Laser Diode Thermal Desorption–Tandem Mass Spectrometry; comparison with High Performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 805, 80–86.

K

Kadar, H., **2011**. Contribution à l'évaluation de l'exposition et de l'imprégnation de l'Homme aux contaminants émergents de type perfluorés. Thèse de Doctorat.

Kadar, H., Veyrand, B., Antignac, J. P., Durand, S., Monteau, F., Le Bizec, B., **2011a**. Comparative study of low-versus high-resolution liquid chromatography-mass spectrometric strategies for measuring perfluorinated contaminants in fish. *Food Additives & Contaminants: Part A* 28, 1261–1273.

Kadar, H., Veyrand, B., Barbarossa, A., Pagliuca, G., Legrand, A., Boshier, C., Boquien, C.Y., Durand, S., Monteau, F., Antignac, J.P., Le Bizec, B., **2011b**. Development of an analytical strategy based on liquid chromatography-high resolution mass spectrometry for measuring perfluorinated compounds in human breast milk: application to the generation of preliminary data regarding perinatal exposure in France. *Chemosphere* 85, 473–480.

Kalli, A., Smith, G.T., Sweredoski, M.J., Hess, S., **2013**. Evaluation and Optimization of Mass Spectrometric Settings during Data-dependent Acquisition Mode: Focus on LTQ-Orbitrap Mass Analyzers. *J. Proteome Res.*, 12, 3071–3086.

Kan, A.T., Fu, G., Tomson, M.B., **1994**. Adsorption/desorption hysteresis in organic pollutant and soil/sediment interaction. *Environ. Sci. Technol.* 28, 859–867.

Kannan, K., **2011**. Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances: Current and Future Perspectives. *Environ. Chem.* 8, 333–338.

Kannan, K., Corsolini, S., Falandysz, J., Fillmann, G., Kumar, K.S., Loganathan, B.G., Mohd, M.A., Olivero, J., van Wouwe, N., Yang, J.H., Aldous, K.M., **2004**. Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in human blood from several countries. *Environ Sci. Technol.* 38, 4489–4495.

Kannan, K., Franson, J.C., Bowerman, W.W., Hansen, K.J., Jones, P.D., Giesy, J.P., **2001b**. Perfluorooctane sulfonate in fish-eating water birds including bald eagles and albatrosses. *Environ Sci. Technol.* 35, 3065–3070.

Kannan, K., Koistinen, J., Beckmen, K., Evans, T., Gorzelany, J.F., Hansen, K.J., Jones, P.D., Helle, E., Nyman, M., Giesy, J.P., **2001a**. Accumulation of perfluorooctane sulfonate in marine mammals. *Environ Sci. Technol.* 35, 1593–1598.

Kannan, K., Tao, L., Sinclair, E., Pastva, S.D., Jude, D.J., Giesy, J.P., **2005**. Perfluorinated compounds in aquatic organisms at various trophic levels in a Great Lakes food chain. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 48, 559–566.

Karickhoff, S.W., Brown, D.S., Scott, T.A., **1979**. Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water Res.* 13, 241–248.

Kärman, A., Ericson, I., van Bavel, B., Darnerud, P.O., Aune, M., Glynn, A., Lignell, S., Lindström, G., **2007**. Exposure of perfluorinated chemicals through lactation: levels of matched human milk and serum and a temporal trend, 1996–2004, in Sweden. *Environ. Health Persp.* 115, 226–230.

Kärman, A., Langlois, I., van Bavel, B., Lindström, G., Oehme, M., **2007**. Identification and pattern of perfluorooctane sulfonate (PFOS) isomers in human serum and plasma. *Environ. Int.* 33, 782–788.

Kärman, A., Mueller, J.F., Van Bavel, B., Harden, F., Toms, L.M.L., Lindström, G., **2006**. Levels of 12 perfluorinated chemicals in pooled Australian serum, collected 2002-2003, in relation to age, gender, and region. *Environ. Sci. Technol.* 40, 3742–3748.

Kärman, A., van Bavel, B., Järnberg, U., Hardell, L., Lindström, G., **2006**. Perfluorinated chemicals in relation to other persistent organic pollutants in human blood. *Chemosphere* 64, 1582–1591.

Kaserzon, S.L., Kennedy, K., Hawker, D.W., Thompson, J., Carter, S., Roach, A.C., Booij, K., Mueller, J.F., **2012**. Development and Calibration of a Passive Sampler for Perfluorinated Alkyl Carboxylates and Sulfonates in Water. *Environ. Sci. Technol.* 46, 4985–4993.

Kelly, B.C., Ikonomou, Blair, J.D., Surridge, B., Hoover, D., Grace, R., Gobas, F.A.P.C., **2009**. Perfluoroalkyl Contaminants in an Arctic Marine Food Web: Trophic Magnification and Wildlife Exposure. *Environ. Sci. Technol.* 43, 4037–4043.

Kennedy, G.L., **1985**. Dermal toxicity of ammonium perfluorooctanoate. *Toxicology and applied pharmacology* 81, 348–355.

Kennedy, G.L., Hall, G.T., Brittelli, M.R., Barnes, J.R., Chen, H.C., **1986**. Inhalation toxicity of ammonium perfluorooctanoate. *Food and chemical toxicology* 24, 1325–1329.

Kennedy, G.L., **1987**. Increase in mouse liver weight following feeding of ammonium perfluorooctanoate and related fluorochemicals. *Toxicol. Lett.* 39, 295–300.

Kennedy, G.L., Butenhoff, J.L., Olsen, G. W., O'Connor, J.C., Seacat, A.M., Perkins, R.G., Biegel, L.B., Murphy, S.R., Farrar, D.G., **2004**. The toxicology of perfluorooctanoate. *Critical Reviews in Toxicology* 34, 351–384.

Kennedy, P., Kennedy, H., Papadimitriou, S., **2005**. The effect of acidification on the determination of organic carbon, total nitrogen and their stable isotopic composition in algae and marine sediment. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19, 1063–1068.

Kissa, E., **1994**. *Fluorinated surfactants: synthesis, properties, applications*. New York: M. Dekker.

Kissa, E., **2001**. *Fluorinated surfactants and repellents*, Vol. 97, CRC Press.

Kop, M., Peter, H.U., Mustafa, O., Lisovski, S., Ritz, M.S., Phillips, R.A., Hahn, S., **2011**. South polar skuas from single breeding population overwinter in different oceans though show similar migration patterns. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 435, 263–267.

Kraepiel, A.M., Chiffoleau, J.F., Martin, J.M., Morel, F.M., **1997**. Geochemistry of trace metals in the Gironde estuary. *Geochim. Cosmochim. Acta* 61, 1421–1436.

Krafft, M.P., Riess, J.G., **2015**. Selected physicochemical aspects of poly- and perfluoroalkylated substances relevant to performance, environment and sustainability – Part one. *Chemosphere* 129, 4–19.

Kratzer, J., Ahrens, L., Roos, A., Bäcklin, B.M., Ebinghaus, R., **2011**. Temporal trends of polyfluoroalkyl compounds (PFCs) in liver tissue of grey seals (*Halichoerus grypus*) from the Baltic Sea, 1974–2008. *Chemosphere* 84, 1592–1600.

Kubwabo, C., Vais, N., Benoit, F.M., **2004**. A pilot study on the determination of perfluorooctanesulfonate and other perfluorinated compounds in blood of Canadians. *J. Environ. Monit.* 6, 540–545.

Kuklennyik, Z., Needham, L.L., Calafat, A.M., **2005**. Measurement of 18 Perfluorinated Organic Acids and Amides in Human Serum Using On-Line Solid-Phase Extraction. *Anal. Chem.* 77, 6085–6091.

Kuroda, K., Mukarami, M., Oguma, K., Takada, H., Takizawa, S. **2014**. Investigating sources and pathways of perfluoroalkyl acids (PFAAs) in aquifers in Tokyo using multiple tracers. *Sci. Total Environ.* 488–489, 51–60.

Kwadijk, C.J.A.F., Korytár, P., Koelmans, A.A., **2010**. Distribution of perfluorinated compounds in aquatic systems in The Netherlands. *Environ. Sci. Technol.* 44, 3746–3751.

Kwok, K.Y., Yamazaki, E., Yamashita, N., Taniyasu, S., Murphy, M.B., Horii, Y., Petrick, G., Kallerborn, R., Kannan, K., Murano, K., Lam, P.K.S., **2013**. Transport of Perfluoroalkyl substances (PFAS) from an arctic glacier to downstream locations: Implications for sources. *Sci. Total Environ.* 447, 46–55.

L

Labadie, P., Hill, E.M., **2007**. Analysis of estrogens in river sediments by liquid chromatography–electrospray ionisation mass spectrometry. Comparison of tandem mass spectrometry and time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1141, 174–181.

Labadie, P., Chevreuil, M., **2011a**. Partitioning Behaviour of Perfluorinated Alkyl Contaminants Between Water, Sediment and Fish in the Orge River (nearby Paris, France). *Environ. Pollut.* 159, 391–397.

Labadie, P., Chevreuil, M., **2011b**. Biogeochemical Dynamics of Perfluorinated Alkyl Acids and Sulfonates in the River Seine (Paris, France) under Contrasting Hydrological Conditions. *Environ. Pollut.* 159, 3634–3639.

Lahra, M., Leiserowitz, L., **2001**. The effect of solvent on crystal growth and morphology. *Chem. Eng. Sci.* 56, 2245–2253.

Lam, N.H., Cho, C.R., Lee, J.S., Soha, H.Y., Lee, B.C., Lee, J.A., Tatarozako, N., Sasaki, K., Saitoe, N., Iwabuchi, K., Kannan, K., Cho, H.S., **2014**. Perfluorinated alkyl substances in water, sediment, plankton and fish from Korean rivers and lakes: A nationwide survey. *Sci. Total Environ.* 154–162.

Lanceleur, L., Schäfer, J., Chiffolleau, J. F., Blanc, G., Auger, D., Renault, S., Baudrimont, M., Audry, S., **2011**. Long-term records of cadmium and silver contamination in sediments and oysters from the Gironde fluvial–estuarine continuum–Evidence of changing silver sources. *Chemosphere* 85, 1299–1305.

Lau, C., **2012**. Perfluoroalkyl acids: Recent research highlights. *Reprod. Toxicol.* 33, 405–409.

Lau, C., Anitole, K., Hodes, C., Lai, D., Pfahles-Hutchens, A., Seed, J., **2007**. Perfluoroalkyl acids: a review of monitoring and toxicological findings. *Toxicol. Sci.*, 99, 366–394.

Lau, C., Butenhoff, J.L., Rogers, J.M., **2004**. The developmental toxicity of perfluoroalkyl acids and their derivatives. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 198, 231–241.

Lau, C., Thibodeaux, J.R., Hanson, R.G., Rogers, J.M., Grey, B.E., Stanton, J.L., Butenhoff, J.L., Stevenson, L.A., **2003**. Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse: II. Postnatal evaluation. *Toxicol. Sci.* 74, 382–392.

Lauwerys, R.R., Haufroid, V., Huet, P., Lison, D., **2007**. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles [texte imprimé]. Issy-les-Moulineaux.

Lee, H., Zhao, X., Bhavsar, S., Reiner, E.J. Assessing the optimal spiking ratio of native to isotopically-labeled standard during quantitative analysis of perfluoroalkyl acids in environmental samples. *Fluoros 2015 Conference*.

Lee, L., **2013**. NADA: Nondetects And Data Analysis for environmental data. R package version 1.5-5.

Lee, S.J., Kim, J.H., Chang, Y.S., Moon, M.H., **2006**. Characterization of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in different particle size fractions of marine sediments. *Environ. Pollut.* 144, 554–561.

Lehmle, H.J., **2005**. Synthesis of environmentally relevant fluorinated surfactants—a review. *Chemosphere* 58, 1471–1496.

Leonel, J., Kannan, K., Tao, L., Fillmann, G., Montone, R.C., **2008**. A baseline study of perfluorochemicals in Franciscana dolphin and subantarctic fur seal from coastal waters of Southern Brazil. *Mar. Pollut. Bull.* 56, 778–781.

Lescord, G.L., Kidd, K.A., De Silva, A.O., Williamson, M., Spencer, C., Wang, X., Muir, D.C.G., **2015**. Perfluorinated and polyfluorinated compounds in lake food webs from the Canadian high arctic. *Environ. Sci. Technol.* 49, 2694–2702.

Lesueur, P., **1992**. Les vasières de la plate-forme Ouest-Gironde (France) : modèle faciologique et archive sédimentaire des flux côtiers. Thèse de Doctorat.

Li, F., Sun, H., Hao, Z., Hea, N., Zhao, L., Zhang, T., Sun, T., **2011**. Perfluorinated compounds in Haihe River and Dagou Drainage Canal in Tianjin, China. *Chemosphere* 84, 265–271.

Lin, A.Y.C., Panchangam, S.C., Ciou, P.S., **2010**. High levels of perfluorochemicals in Taiwan's wastewater treatment plants and downstream rivers pose great risk to local aquatic ecosystems. *Chemosphere* 80, 1167–1174.

Lindim, C., Cousins, I.T., **2015**. Estimating emissions of PFOS and PFOA to the Danube River catchment and evaluating them using a catchment-scale chemical transport and fate model. *Environmental Pollution*, 207, 97–106.

Liu, B., Zhang, H., Xie, L., Li, J., Wang, X., Zhao, L., Wang, Y., Yang, B., **2015**. Spatial distribution and partition of perfluoroalkyl acids (PFAAs) in rivers of the Pearl River Delta, southern China. *Sci. Total Environ.* 524, 1–7.

Liu, W.X., He, W., Qin, N., Kong, X.Z., He, Q.S., Yang, B., Yang, C., Jorgensen, S.E., Xu, F.L., **2015**. Temporal-spatial distributions and ecological risks of perfluoroalkylacids (PFAAs) in the surface water from the fifth-largest freshwater lake in China (Lake Chaohu). *Environ. Pollut.* 200, 24–34.

Liu, C., Gin, K.Y.H., Chang, V.W.C., Goh, B.P.L., Reinhard, M., **2011**. Novel perspectives on the Bioaccumulation of PFCs – the Concentration Dependency. *Environ. Sci. Technol.* 45, 9758–9764.

Liu, J., Wang, N., Buck, R.C., Wolstenholme, B.W., Folsom, P.W., Sulecki, L.M., Bellin, C.A., **2010b**. Aerobic biodegradation of [^{14}C] 6:2 fluorotelomer alcohol in a flow-through soil incubation system. *Chemosphere* 80, 716–723.

Liu, J., Szostek, B., Buck, R.C., Panciroli, P.K., Folsom, P.W., Sulecki, L.M., Bellin, C.A., **2010a**. 6-2 Fluorotelomer alcohol aerobic biodegradation in soil and mixed bacterial culture. *Chemosphere* 78, 437–444.

Liu, J., Mejia-Avendaño, S., **2013**. Microbial degradation of polyfluoroalkyl chemicals in the environment: A review. *Environ. Int.* 61, 98–114.

Liu, S., Lu, Y., Xie, S., Wang, T., Jones, K.C., Sweetman, A.J., **2015**. Exploring the fate, transport and risk of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) in a coastal region of China using a multimedia model. *Environ. Int.* 85, 15–26.

Liu, Y., Dos Santos Pereira, A., Martin, J., **2015**. Discovery of C5 – C17 Poly- and Perfluoroalkyl Substances in Water by In-Line SPE-HPLC-Orbitrap with In-Source Fragmentation Flagging. *Anal. Chem.*, in press.

Llorca, M., Farré, M., Picó, Y., Barceló, D., **2009**. Development and validation of a pressurized liquid extraction liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for perfluorinated compounds determination in fish. *J. Chromatogr. A* 1216, 7195–7204.

Llorca, M., Farré, M., Tavano, M.S., Alonso, B., Koremblit, G., Barceló, D., **2012a**. Fate of a broad spectrum of perfluorinated compounds in soils and biota from Tierra del Fuego and Antarctica. *Environ. Pollut.* 163, 158–166.

Llorca, M., Farré, M., Karapanagioti, H.K., Barceló, D., **2014**. Levels and fate of perfluoroalkyl substances in beached plastic pellets and sediments collected from Greece. *Marine Poll. Bull.* 87, 286–291.

Llorca, M., Farré, M., Picó, Y., Müller, J., Knepper, T.P., Barceló, D., **2012b**. Analysis of perfluoroalkyl substances in waters from Germany and Spain. *Sci. Total Environ.* 431, 139–150.

Llorca, M., Pérez, F., Farré, M., Agramunt, S., Kogevinas, M., Barceló, D., **2012c**. Analysis of perfluoroalkyl substances in cord blood by turbulent flow chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Sci. Total Environ.* 433, 151–160.

Lloret, E., Dessert, C., Gaillardet, J., Albéric, P., Crispi, O., Chaduteau, C., Benedetti, M.F., **2011**. Comparison of dissolved inorganic and organic carbon yields and fluxes in the watersheds of tropical volcanic islands, examples from Guadeloupe (French West Indies). *Chem. Geol.* 280, 65–78.

Lobry, J., Mourand, L., Rochard, E., Elie, P., **2003**. Structure of the Gironde estuarine fish assemblages: a comparison of European estuaries perspective. *Aquatic Living Res.* 16, 47–58.

Lobry, J., David, V., Pasquaud, S., Lepage, M., Sautour, B., and Rochard, E., **2008**. Diversity and stability of an estuarine trophic network. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 35, 13–25.

Loi, E.I.H., Yeung, L.W.Y., Taniyasu, S., Lam, P.K.S., Kannan, K., Yamashita, N., **2011**. Trophic magnification of poly- and perfluorinated compounds in a subtropical food web. *Environ. Sci. Technol.* 45, 5506–5513.

Loos, R., Gawlik, B.M., Locoro, G., Rimaviciute, E., Contini, S., Bidoglio, G., **2009**. EU-wide Survey of Polar Organic Persistent Pollutants in European River Waters. *Environ. Pollut.* 157, 561–568.

Loos, R., Locoro, G., Comero, S., Contini S., Schwesig, D., Werres, F., Balsaa, P., Gans, O., Weiss, S., Blaha, L., Bolchi, M., Gawlik, B.M. **2010**. Pan-European survey on the occurrence of selected polar organic persistent pollutants in ground water. *Water Res.* 44, 4115–4126.

Lopez, B., Ollivier, P., Togola, A., Baran, N., Ghestem, J.P., **2015**. Screening of French groundwater for regulated and emerging contaminants. *Sci. Total Environ.* 518–519, 562–573.

Lu, Z., Song, L., Zhao, Z., Ma, Y., Wang, J., Yang, H., Ma, H., Cai, M., Codling, G., Ebinghaus, R., Xie, Z., Giesy, J.P., **2015**. Occurrence and trends in concentrations of perfluoroalkyl substances (PFASs) in surface waters of eastern China. *Chemosphere* 119, 820–827.

Luque, N., Ballesteros-Gómez, A., van Leeuwen, S.P.J., Rubio, S., **2010**. Analysis of perfluorinated compounds in biota by microextraction with tetrahydrofuran and liquid chromatography/ion isolation-based ion-trap mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1217, 3774–3782.

M

Ma, R., Shih, K., **2010**. Perfluorochemicals in wastewater treatment plants and sediments in Hong Kong. *Environ. Pollut.* 158, 1354–1362.

MacLeod, N., Rawson, P.F., Forey, P.L., Banner, F.T., Boudagher-Fadel, M.K., Bown, P.R., Burnett, J.A., Chambers, P., Culver, S., Evans, S.E., Jeffery, C., Kaminski, M.A., Lord, A.R., Milner, A.C., Milner, A.R., Morris, N., Owen, E., Rosen, B.R., Smith, A.B., Taylor, P.D., Urquhart, E., Young, J.R., **1997**. The Cretaceous-Tertiary biotic transition. *J. Geol. Soc.* 154, 265–292.

Mallet, C.R., Lu, Z., Mazzeo, J.R., **2004**. A study of ion suppression effects in electrospray ionization from mobile phase additives and solid-phase extracts. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 18, 49–58.

Martin, J.W., Kannan, K., Berger, U., de Voogt, P., Field, J.A., Franklin, J., Giesy, J.P., Harner, T., Muir, D.C.G., Scott, B., Kaiser, M., Järnberg, U., Jones, K.C., Mabury, S.A., Schroeder, H., Simcik, M., Sottani, C., Van Bavel, B., Kärrman, A., Lindström, G., Van Leeuwen, S., **2004a**. Peer reviewed: analytical challenges hamper perfluoroalkyl research. *Environ. Sci. Technol.* 38, 248–255.

Martin, J.W., Mabury, S.A., Solomon, K., Muir, D.C.G., **2003a**. Dietary accumulation of perfluorinated acids in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 189–195.

Martin, J.W., Mabury, S.A., Solomon, K., Muir, D.C.G., **2003b**. Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 196–204.

Martin, J.W., Smithwick, M.M., Braune, B.M., Hoekstra, P.F., Muir, D.C.G., Mabury, S.A., **2004b**. Identification of long-chain perfluorinated acids in biota from the Canadian Arctic. *Environ. Sci. Technol.* 38, 373–380.

Martin, J.W., Whittle, D.M., Muir, D.C.G., Mabury, S.A., **2004c**. Perfluoroalkyl contaminants in a food web from Lake Ontario. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5379–5385.

McGuire, M.E., Schaefer, C., Richards, T., Backe, W.J., Field, J.A., Houtz, E., Sedlak, D.L., Guelfo, J.L., Wunsch, A., Higgins, C.P., **2014**. Evidence of Remediation-Induced Alteration of

Subsurface Poly- and Perfluoroalkyl Substance Distribution at a Former Firefighter Training Area. *Environ. Sci. Technol.* 48, 6644–6652.

McLachlan, M.S., Holmstrom, K.E., Reth, M., Berger, U., **2007**. Riverine Discharge of Perfluorinated Carboxylates from the European Continent. *Environ. Sci. Technol.* 41, 7260–7265.

McMahon, R.F., Hunter, R.D., Russell-Hunter, W.D., **1974**. Variation in Aufwuchs at Six Freshwater Habitats in Terms of Carbon Biomass and of Carbon:Nitrogen Ratio. *Hydrobiologia* 45, 391–404.

Mejia-Avendaño, S., Liu, J., **2015**. Production of PFOS from aerobic soil biotransformation of two perfluoroalkyl sulfonamide derivatives. *Chemosphere* 119, 1084–1090.

Meng, J., Wang, T., Wang, P., Giesy, J.P., Lu, Y., **2014**. Perfluoroalkyl substances and organochlorine pesticides in sediments from Huaihe watershed in China. *J. Environ. Sci.* 26, 2198–2206.

Meybeck, M., Horowitz, A.J., Grosbois, C., **2004**. The geochemistry of Seine River Basin particulate matter: distribution of an integrated metal pollution index. *Sci. Total Environ.* 328, 219–236.

Michalski, A., Damoc, E., Hauschild, J.-P., Lange, O., Wiegand, A., Makarov, A., Nagaraj, N., Cox, J., Mann, M., Horning, S., **2011**. Mass Spectrometry-based Proteomics Using Q Exactive, a High-performance Benchtop Quadrupole Orbitrap Mass Spectrometer. *Mol. Cell. Proteomics*, 10.

Miège, C., Peretti, A., Labadie, P., Budzinski, H., Le Bizec, K., Vorkamp, Tronczyński, J., Persat, H., Coquery, M., Babut, M., **2012**. Occurrence of Priority and Emerging Organic Compounds in Fishes from the Rhone River (France). *Anal. Bioanal. Chem.* 404, 2721–2735.

Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les Changements Climatiques, **2014**. *Tragédie ferroviaire de Lac-Mégantic – Rapport du Comité expert sur la contamination résiduelle de la rivière Chaudière par les hydrocarbures pétroliers – Constats, Recommandations, Actions proposées*. 40 p. et annexes. Available online at www.mddelcc.gouv.qc.ca/lac-megantic/Rapport-chaudiere.pdf, accessed 2015/09/11.

Moe, M.K., Huber, S., Svenson, J., Hagenaaars, A., Pabon, M., Trümper, M., Berger, U., Knapen, D., Herzke, D., **2012**. The structure of the fire fighting foam surfactant Forafac®1157 and its biological and photolytic transformation products. *Chemosphere* 89, 869–875.

Mohapatra, D.P., Brar, S.K., Tyagi, R.D., Picard, P., Surampalli, R.Y., **2012**. Carbamazepine in municipal wastewater and wastewater sludge: Ultrafast quantification by laser diode thermal desorption-atmospheric pressure chemical ionization coupled with tandem mass spectrometry. *Talanta* 99, 247–255.

Molina, M.J., Rowland, F.S., **1974**. Stratospheric sink for chlorofluoromethanes: chlorine atom-catalysed destruction of ozone. *Nature* 249, 810–812.

Möller, A., Ahrens, L., Surm, R., Westerveld, J., van der Wielen, F., Ebinghaus, R., de Voogt, P., **2010**. Distribution and sources of polyfluoroalkyl substances (PFAS) in the River Rhine watershed. *Environ. Pollut.* 158, 3243–3250.

Moody, C.A., Field, J.A., **1999**. Determination of perfluorocarboxylates in groundwater impacted by fire-fighting activity. *Environ. Sci. Technol.* 33, 2800–2806.

Moody, C.A., Field, J.A., **2000**. Perfluorinated surfactants and the environmental implications of their use in fire-fighting foams. *Environ. Sci. Technol.* 34, 3864–3870.

Moody, C.A., Martin, J.W., Chi Kwan, W., Muir, D.C.G., Mabury, S.A., **2002**. Monitoring perfluorinated surfactants in biota and surface water samples following an accidental release of fire-fighting foam into Etobicoke Creek. *Environ. Sci. Technol.* 36, 545–551.

Moon, H.B., Kannan, K., Yun, S., An, Y.R., Choi, S.G., Park, J.Y., Kim, Z.G., Moon, D.Y., Choi, H.G., **2010**. Perfluorinated compounds in minke whales (*Balaenoptera acutorostrata*) and long-beaked common dolphins (*Delphinus capensis*) from Korean coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.* 60, 1130–1135.

Mosch, C., Kiranoglu, M., Fromme, H., Völkel, W., **2010**. Simultaneous quantitation of perfluoroalkyl acids in human serum and breast milk using on-line sample preparation by HPLC column switching coupled to ESI-MS/MS. *J. Chromatogr. B*, 878, 2652–2658.

Muir, D., Sverko, E., **2006**. Analytical methods for PCBs and organochlorine pesticides in environmental monitoring and surveillance: a critical appraisal. *Anal. Bioanal. Chem.* 386, 769–789.

Muir, D.C.G., Howard, P.H., **2006**. Are there other persistent organic pollutants? A challenge for environmental chemists. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7157–7166.

Mukarami, M., Kuroda, K., Sato, N., Fukushi, T., Takizawa, S., Takada, H., **2009**. Groundwater Pollution by Perfluorinated Surfactants in Tokyo. *Environ. Sci. Technol.* 43, 3480–3486.

Mukarami, M., Shinohara, H., Takada, H., **2009**. Evaluation of wastewater and street runoff as sources of perfluorinated surfactants (PFSS). *Chemosphere* 74, 487–493.

Munoz, G., Giraudel, J.L., Botta, F., Lestremau, F., Dévier, M.H., Budzinski, H., Labadie, P., **2015a**. Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: a French nationwide survey. *Sci. Total Environ.* 517, 48–56.

Munoz, G., Vo Duy, S., Budzinski, H., Labadie, P., Liu, J., Sauvé, S., **2015b**. Quantitative analysis of poly- and perfluoroalkyl compounds in water matrices using high resolution mass spectrometry: Optimization for a laser diode thermal desorption method. *Anal. Chim. Acta* 881, 98–106.

Munoz, G., Babut, M., Lobry, J., Selleslagh, J., Tapie, N., Budzinski, H., Labadie, P. One-year monitoring of temporal variations and partitioning behavior of poly- and perfluoroalkyl substances between water, suspended particulate matter and biota in a macrotidal estuary: case study on the Gironde. Submitted to *Chemosphere*.

Munoz, G., Fechner, L., Budzinski, H., Labadie, P. Spatio-temporal dynamics of perfluoroalkylated compounds and transfer to periphytic biofilm in an urban river: case-study on the River Seine. Submitted to *Environ. Sci. Pollut. Res.*

Munoz, G., Labadie, P., Botta, F., , Lestremau, F., Lopez, B., Geneste, E., Pardon, P., Dévier, M.H., Budzinski, H. Occurrence and fate of poly and perfluoroalkyl substances (PFASs) in groundwater, surface water, and sediments from tropical environments: a case-study in Overseas France. Submitted to *Sci. Total Environ.*

Munoz, G., Simonnet-Laprade, C., Pardon, P., Budzinski, H., Labadie, P. Analysis of poly and perfluorinated compounds in fish matrices: optimization of a microwave assisted extraction method. Submitted to *J. Chromatogr. A*.

Munsch, C., Marchand, P., Venisseau, A., Veyrand, B., Zendong, Z., **2013**. Levels and Trends of the Emerging Contaminants HBCDs (hexabromocyclododecanes) and PFCs (perfluorinated Compounds) in Marine Shellfish along French Coasts. *Chemosphere* 91, 233–240.

Munsch, C., Olivier, N., Veyrand, B., Marchand, P., **2015**. Occurrence of legacy and emerging halogenated organic contaminants in marine shellfish along French coasts. *Chemosphere*, 118, 329–335.

Myers, A.L., Crozier, P.W., Helm, P.A., Brimacombe, C., Furdui, V.I., Reiner, E.J., Burniston, D., Marvin, C.H., **2012**. Fate, distribution, and contrasting temporal trends of perfluoroalkyl substances (PFASs) in Lake Ontario, Canada. *Environ. Int.* 44, 92–99.

N

Nakata, H., Kannan, K., Nasu, T., Cho, H.S., Sinclair, E., Takemura, A., **2006**. Perfluorinated contaminants in sediments and aquatic organisms collected from shallow water and tidal flat areas of the Ariake Sea, Japan: environmental fate of perfluorooctane sulfonate in aquatic ecosystems. *Environ. Sci. Technol.* 40, 4916–4921.

Nash, S.B., Rintoul, S.R., Kawaguchi, S., Staniland, I., van den Hoff, J., Tierney, M., Bossi, R., **2010**. Perfluorinated compounds in the Antarctic region: Ocean circulation provides prolonged protection from distant sources. *Environ. Pollut.* 158, 2985–2991.

Nøst, T.H., Helgason, L.B., Harju, M., Heimstad, E.S., Gabrielsen, G.W., Jenssen, B.M., **2012**. Halogenated organic contaminants and their correlations with circulating thyroid hormones in developing Arctic seabirds. *Sci. Total Environ.* 414, 248–256.

O

Oakes, K.D., Benskin, J.P., Martin, J.W., Ings, J.S., Heinrichs, J.Y., Dixon, D.G., Servos, M.R., **2010**. Biomonitoring of perfluorochemicals and toxicity to the downstream fish community of Etobicoke Creek following deployment of aqueous film-forming foam. *Aquat. Toxicol.* 98, 120–129.

OCDE, **2002**. Hazard assessment of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and its salts, OECD, ENV/JM/RD(2002)17/FINAL. Available online at www.oecd.org/env/ehs/risk-assessment/2382880.pdf, accessed 2015/10/12.

OCDE, **2013**. OECD/UNEP Global PFC Group. *Synthesis paper on per- and polyfluorinated chemicals (PFCs)*. Environment, Health and Safety, Environment Directorate, OECD.

O'Connell, S.G., Arendt, M., Segars, A., Kimmel, T., Braun-McNeill, J., Avens, L., Schroeder, B., Ngai, L., Kucklick, J.R., Keller, J.M., **2010**. Temporal and spatial trends of perfluorinated compounds in juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) along the east coast of the United States. *Environ. Sci. Technol.* 44, 5202–5209.

O'Hagan, D., **2010**. Fluorine in health care: Organofluorine containing blockbuster drugs. *J. Fluor. Chem.* 131, 1071–1081.

Olivero-Verbel, J., Tao, L., Johnson-Restrepo, B., Guette-Fernández, J., Baldiris-Avila, R., O'byrne-Hoyos, I., Kannan, K., **2006**. Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in biological samples from the north coast of Colom. *Environ. Pollut.* 142, 367–372.

Olson, C.T., Andersen, M.E., **1983**. The acute toxicity of perfluorooctanoic and perfluorodecanoic acids in male rats and effects on tissue fatty acids. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 70, 362–372.

Olsen, G.W., Gilliland, F.D., Burlew, M.M., Burris, J.M., Mandel, J.S., Mandel, J.H., **1998**. An epidemiologic investigation of reproductive hormones in men with occupational exposure to perfluorooctanoic acid. *Journal of Occupational and Environmental Medicine* 40, 614–622.

Olsen, G.W., Burris, J.M., Mandel, J.H., Zobel, L.R., **1999**. Serum perfluorooctane sulfonate and hepatic and lipid clinical chemistry tests in fluorochemical production employees. *Journal of Occupational and Environmental Medicine* 41, 799–806.

Olsen, G.W., Church, T.R., Miller, J.P., Burris, J.M., Hansen, K.J., Lundberg, J.K., Armitage, J.B., Herron, R.M., Medhdizadehkashi, Z., Nobiletti, J.B., O'Neil, E.M., Mandel, J.H., Zobel, L.R., **2003**. Perfluorooctanesulfonate and other fluorochemicals in the serum of american red cross adult blood donors. *Environ. Health Persp.* 111, 1892–1901.

Olsen, G.W., Hansen, K.J., Stevenson, L.A., Burris, J.M., Mandel, J.H. **2003**. Human donor liver and serum concentrations of perfluorooctane sulfonate and other perfluorochemicals. *Environ. Sci. Technol.* 37, 888–891.

Olsen, G.W., Burris, J.M., Ehresman, D.J., Froehlich, J.W., Seacat, A.M., Butenhoff, J.L., Zobel, L.R., **2007**. Half-Life of Serum Elimination of Perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and Perfluorooctanoate in Retired Fluorochemical Production Workers. *Environ. Health Persp.* 115, 1298–1305.

Olsen, G.W., Butenhoff, J.L., Zobel, L.R., **2009**. Perfluoroalkyl chemicals and human fetal development: an epidemiologic review with clinical and toxicological perspectives. *Reprod. Toxicol.* 27, 212–230.

Olsen, G.W., Huang, H.Y., Helzlsouer, K.J., Hansen, K.J., Butenhoff, J.L., Mandel, J.H., **2005**. Historical comparison of perfluorooctanesulfonate, perfluorooctanoate, and other fluorochemicals in human blood. *Environ. Health Persp.* 113, 539–545.

Olson, C.T., Andersen, M.E., **1983**. The acute toxicity of perfluorooctanoic and perfluorodecanoic acids in male rats and effects on tissue fatty acids. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 70, 362–372.

Onghena, M., Moliner-Martinez, Y., Picó, Y., Campins-Falco, P., Barceló, D., **2012**. Analysis of 18 perfluorinated compounds in river waters: Comparison of high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry, ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry and capillary liquid chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1244, 88–97.

Ophaug, R.H., Singer, L., **1980**. Metabolic handling of perfluorooctanoic acid in rats. *Experimental Biology and Medicine* 163, 19–23.

P

Pabon, M., Corpart, J.M., **2002**. Fluorinated surfactants: synthesis, properties, effluent treatment. *J. Fluorine Chem.* 114, 149–156.

Pan, C.G., Ying, G.G., Zhao, J.L., Liu, Y.S., Jiang, Y.X., Zhang, Q.Q., **2014**. Spatiotemporal distribution and mass loadings of perfluoroalkyl substances in the Yangtze River of China. *Sci. Total Environ.* 493, 580–587.

Pan, G., Zhou, Q., Luan, X., Fu, Q.S., **2014**. Distribution of perfluorinated compounds in Lake Taihu (China): Impact to human health and water standards. *Sci. Total Environ.* 487, 778–784.

Pasquaud, S., Elie, P., Jeantet, C., Billy, I., Martinez, P., Girardin, M., **2008**. A preliminary investigation of the fish food web in the Gironde estuary, France, using dietary and stable isotope analyses. *Est. Coastal Shelf Sci.* 78, 267–279.

Pasquaud, S., Pillet, M., David, V., Sautour, B., Elie, P., **2010**. Determination of fish trophic levels in an estuarine system. *Est. Coast. Shelf Sci.* 86, 237–246.

Paul, A.G., Jones, K.C., Sweetman, A.J., **2008**. A first global production, emission, and environmental inventory for perfluorooctane sulfonate. *Environ. Sci. Technol.* 43, 386–392.

Peng, H., Wei, Q., Wan, Y., Giesy, J.P., Li, L., Hu, J., **2010**. Tissue distribution and maternal transfer of poly-and perfluorinated compounds in Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*): implications for reproductive risk. *Environ. Sci. Technol.* 44, 1868–1874.

Perra, G., Focardi, S.E., Cristiana Guerranti, C., **2013**. Levels and spatial distribution of perfluorinated compounds (PFCs) in superficial sediments from the marine reserves of the Tuscan Archipelago National Park (Italy). *Marine Poll. Bull.* 76, 379–382.

Perry, R.H., Cooks, R.G., Noll, R.J., **2008**. Orbitrap Mass Spectrometry: Instrumentation, Ion Motion and Applications. *Mass Spectrom. Rev.*, 27, 661–699.

Peters, R.A., Shorthouse, M., **1971**. Identification of a volatile constituent formed by homogenates of *Acacia georginae* exposed to fluoride. *Nature* 231, 123–124.

Phimister, J.R., Oktem, U., Kleindorfer, P.R., Kunreuther, H., **2003**. Near-miss incident management in the chemical process industry. *Risk Anal.* 23, 445–459.

Pistocchi, A., Loos, R., **2009**. A Map of European Emissions and Concentrations of PFOS and PFOA. *Environmental Science & Technology* 43, 9237–9244.

Place, B.J., Field, J.A., **2012**. Identification of novel fluorochemicals in aqueous film-forming foams used by the US military. *Environ. Sci. Technol.* 46, 7120–7127.

Portier, J., **1968**. Article « Fluor ». *Encyclopædia Universalis France 1968*, pp.66–68, septième volume (Finalité – Grèce).

Post, D.M., **2002**. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* 83, 703–718.

Post, G.B., Louis, J.B., Lippincott, R.L., Procopio, N.A. **2013**. Occurrence of Perfluorinated Compounds in Raw Water from New Jersey Public Drinking Water Systems. *Environ. Sci. Technol.* 47, 13266–13275.

Powley, C.R., George, S.W., Russell, M.H., Hoke, R.A. Buck, R.C., **2008**. Polyfluorinated chemicals in a spatially and temporally integrated food web in the Western Arctic. *Chemosphere* 70, 664–672.

Powley, C.R., George, S.W., Ryan, T.W., Buck, R.C. Matrix Effect-Free Analytical Methods for Determination of Perfluorinated Carboxylic Acids in Environmental Matrixes. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 6353–6358.

Prevedouros, K., Cousins, I.T., Buck, R.C., Korzeniowski, S., **2006**. Sources, Fate and Transport of Perfluorocarboxylates. *Environ. Sci. Technol.*, *40*, 32–44.

Q

Qi, Y., Hu, S., Huo, S., Xi, B., Zhang, J., Wang, S., **2015**. Spatial distribution and historical deposition behaviors of perfluoroalkyl substances (PFASs) in sediments of Lake Chaohu, a shallow eutrophic lake in Eastern China. *Ecol. Indic.* *57*, 1–10.

R

Ramade, F., **2007**. *Introduction à l'écotoxicologie: Fondements et applications*. Eds Lavoisier.

R Core Team, **2013**. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <<http://www.R-project.org>>.

Ramdine, G., Fichet, D., Louis, M., Lemoine, S. **2012**. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediment and oysters (*Crassostrea rhizophorae*) from mangrove of Guadeloupe: Levels, bioavailability, and effects. *Ecotox. Environ. Safe.* *79*, 80–89.

Rayne, S., Forest, K., Friesen, K.J., **2009a**. Computational approaches may underestimate pKa values of longer-chain perfluorinated carboxylic acids: Implications for assessing environmental and biological effects. *J. Environ. Sci. Health Part A* *44*, 317–326.

Rayne, S., Forest, K., Friesen, K.J., **2009b**. Extending the semi-empirical PM6 method for carbon oxyacid pKa prediction to sulfonic acids: Application towards congener-specific estimates for the environmentally and toxicologically relevant C1 through C8 perfluoroalkyl derivatives. *Nat. Prec.*

REACH Annex XIII on Criteria for the identification of persistent, bioaccumulative and toxic substances, and very persistent and very bioaccumulative substances (<http://www.reachonline.eu/REACH/EN/REACH_EN/articleXIII.html>, retrieved 2015/06/18).

Reiner, J.L., O'Connell, S.G., Butt, C.M., Mabury, S.A., Small, J.M., De Silva, A.O., Muir, D.C.G., Delinsky, A.D., Strynar, M.J., Lindstrom, A.B., Reagen, W.K., Malinsky, M., Schäfer, S., Kwadijk, C.J.A.F., Schantz, M.M., Keller, J.M., **2012**. Determination of perfluoroalkyl acid concentrations in biological standard reference materials. *Anal. Bioanal. Chem.* *404*, 2683–2692.

Reiner, J.L., O'Connell, S.G., Moors, A.J., Kucklick, J.R., Becker, P.R., Keller, J.M., **2011**. Spatial and temporal trends of perfluorinated compounds in beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from Alaska. *Environ. Sci. Technol.* *45*, 8129–8136.

Renner, R., **2001**. Growing Concern Over Perfluorinated Chemicals. Evidence of toxic effects and environmental impacts has sent researchers scrambling to obtain more data. *Environ Sci. Technol.* 35, 154–160.

Ricart, M., Barceló, D., Geiszinger, A., Guasch, H., López de Alda, M., Romaní, A.M., Vidal, G., Villagrasa, M., Sabater, S., **2009**. Effects of low concentrations of the phenylurea herbicide diuron on biofilm algae and bacteria. *Chemosphere* 76, 1392–1401.

Richardson, S. D., **2009**. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Anal. Chem.*, 81, 4645–4677.

Riddell, N., Arsenault, G., Benskin, J.P., Chittim, B., Martin, J.W., McAlees, A., McCrindle, R., **2009**. Branched perfluorooctane sulfonate isomer quantification and characterization in blood serum samples by HPLC/ESI-MS(/MS). *Environ. Sci. Technol.* 43, 7902–7908.

Rigét, F., Bossi, R., Sonne, C., Vorkamp, K., Dietz, R., **2013**. Trends of perfluorochemicals in Greenland ringed seals and polar bears: Indications of shifts to decreasing trends. *Chemosphere* 93, 1607–1614.

Roosens, L., D'Hollander, W., Bervoets, L., Reynders, H., Van Campenhout, K., Cornelis, C., Van Den Heuvel, R., Koppen, G., Covaci, A., **2010**. Brominated flame retardants and perfluorinated chemicals, two groups of persistent contaminants in Belgian human blood and milk. *Environ. Pollut.* 158, 2546–2552.

Rotander, A., Kärrman, A., Toms, L.M.L., Kay, M., Mueller, J.F., Gómez Ramos, M.J., **2015**. Novel fluorinated surfactants tentatively identified in firefighters using liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry and a case-control approach. *Environ Sci. Technol.* 49, 2434–2442.

Routti, H., Krafft, B.A., Herzke, D., Eisert, R., Oftedal, O., **2015**. Perfluoroalkyl substances detected in the world's southernmost marine mammal, the Weddell seal (*Leptonychotes weddellii*). *Environ. Pollut.* 197, 62–67.

Roy, E., Rousselle, J., Lacroix, J., **2003**. Flood damage reduction program (FDRP) in Quebec: case study of the Chaudiere river. *Nat. Haz.* 28, 387–405.

Roy, S., Gaillardet, J., Allègre, J.C., **1999**. Geochemistry of dissolved and suspended loads of the Seine river, France: Anthropogenic impact, carbonate and silicate weathering. *Geochim. Cosmochim. Acta* 63, 1277–1292.

Roy-Lachapelle, A., Fayad, P.B., Sinotte, M., Deblois C., Sauvé S., **2014**. Total microcystins analysis in water using laser diode thermal desorption-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 820, 76–83.

Ruan, T., Lin, Y., Wang, T., Liu, R., Jiang, G., **2015**. Identification of novel polyfluorinated ether sulfonates as PFOS alternatives in municipal sewage sludge in China. *Environ. Sci. Technol.* in press (DOI: 10.1021/acs.est.5b01010).

Ruhí, A., Acuña, V., Barceló, D., Huerta, B., Mor, J.R., Rodríguez-Mozaz, S., Sabater, S., **2015**. Bioaccumulation and trophic magnification of pharmaceuticals and endocrine disruptors in a Mediterranean river food web. *Sci. Total Environ.* in press.

Rye, R., Kuo, P.H., Holland, H.D., **1995**. Atmospheric carbon dioxide concentrations before 2.2 billion years ago. *Nature* 378, 603–605.

S

Sabater, S., Guasch, H., Ricart, M., Romaní, A., Vidal, G., Klünder, C., Schmitt-Jansen, M., **2007**. Monitoring the effect of chemicals on biological communities. The biofilm as an interface. *Anal. Bioanal. Chem.* 387, 1425–1434.

Sanchez-Prado, L., Garcia-Jares, C., Llompart, M., **2010**. Microwave-assisted extraction: Application to the determination of emerging pollutants in solid samples. *J. Chromatogr. A*, 1217, 2390–2414.

Schiavone, A., Corsolini, S., Kannan, K., Tao, L., Trivelpiece, W., Torres Jr., D., Focardi, S., **2009**. Perfluorinated contaminants in fur seal pups and penguin eggs from South Shetland, Antarctica. *Sci. Total Environ.* 407, 3899–3904.

Schleupner, C., **2008**. Evaluation of coastal squeeze and its consequences for the Caribbean island Martinique. *Ocean Coast. Manage.* 51, 383–390.

Schneier-Madanes, G., **2010**. In Coing, H., 2010. *L'eau mondialisée: la gouvernance en question*. Eds. La Découverte.

Schultz, M.M., Barofsky, D., Field, J.A., **2004**. Quantitative Determination of Fluorotelomer Sulfonates in Groundwater by LC MS/MS. *Environ Sci. Technol.* 38, 1828–1835.

Schultz, M.M., Barofsky, D.F., Field, J. A., **2006**. Quantitative Determination of Fluorinated Alkyl Substances by Large-Volume-Injection Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry – Characterization of Municipal Wastewaters. *Environ. Sci. Technol.*, 40, 289–295.

Schultz, M.M., Higgins, C.P., Huset, C.A., Luthy, R.G., Barofsky, D.F., Field, J.A., **2006**. Fluorochemical Mass Flows in a Municipal Wastewater Treatment Facility. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7350–7357.

Scott, B.F., De Silva, A.O., Spencer, C., Lopez, E., Backus, S.M., Muir, D.C.G., **2010**. Perfluoroalkyl acids in Lake Superior water: Trends and sources. *J. Great Lakes Res.* 36, 277–284.

Seacat, A.M., Thomford, P.J., Hansen, K.J., Olsen, G.W., Case, M.T., Butenhoff, J.L., **2002**. Subchronic toxicity studies on perfluorooctanesulfonate potassium salt in cynomolgus monkeys. *Toxicol. Sci.* 68, 249–264.

Segura, P.A., Tremblay, P., Picard, P., Gagnon, C., Sauvé, S., **2010**. High-Throughput Quantitation of Seven Sulfonamide Residues in Dairy Milk using Laser Diode Thermal Desorption-Negative Mode Atmospheric Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry. *J. Agric. Food. Chem.*, 58, 1442–1446.

Selleslagh, J., Lobry, J., N'Zigou, A.R., Bachelet, G., Blanchet, H., Chaalali, A., Sautour, B., Boët, P., **2012**. Seasonal succession of estuarine fish, shrimps, macrozoobenthos and plankton: Physico-chemical and trophic influence. The Gironde estuary as a case study. *Est. Coast. Shelf Sci.* 112, 243–254.

Shan, G., Wei, M., Zhu, L., Liu, Z., Zhang, Y., **2014**. Concentration profiles and spatial distribution of perfluoroalkyl substances in an industrial center with condensed fluorochemical facilities. *Sci. Total Environ.* 490, 351–359.

Sheringer, M., Trier, X., Cousins, I.T., De Voogt, P., Fletcher, T., Wang, Z., Webster, T.F., **2014**. Helsingør Statement on poly- and perfluorinated alkyl substances (PFASs). *Chemosphere* 114, 337–339.

Simcik, M.F., Dorweiler, K.J., **2005**. Ratio of Perfluorochemical Concentrations as a Tracer of Atmospheric Deposition to Surface Waters. *Environ. Sci. Technol.* 39, 8678–8683.

Simons, J.H., **1949**. Production of Fluorocarbons I. The Generalized Procedure and its Use with Nitrogen Compounds. *Journal of the Electrochemical Society* 95, 47–52.

Simons, J.H., **1986**. The seven ages of fluorine chemistry. *J. Fluor. Chem.* 32, 7–24.

Smith, T.D., **1972**. Functional fluid compositions containing perfluoro surfactants. U.S. Patent No. 3,679,587, July 15th, 1972.

Smith, J.A., Tuck, D.M., Jaffé, P.R., Mueller, R.T., **1991**. Effect of surfactants on the mobility of nonpolar organic contaminants in porous media. In *Organic Substances and Sediments in Water Volume 1 Humics and Soils*, Ed. Baker, R.A.

So, M.K., Taniyasu, S., Yamashita, N., Giesy, J.P., Zheng, J., Fang, Z., Im, S.H., Lam, P.K.S., **2004**. Perfluorinated compounds in coastal waters of Hong Kong, South China, and Korea. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4056–4063.

So, M.K., Taniyasu, S., Lam, P.K.S., Zheng, G.J., Giesy, J.P., Yamashita, N., **2006**. Alkaline digestion and solid phase extraction method for perfluorinated compounds in mussels and oysters from south China and Japan. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50, 240–248.

Sohlenius, A.K., Eriksson, A.M., Höglström, C., Kimland, M., DePierre, J.W., **1993**. Perfluorooctane Sulfonic Acid is a Potent Inducer of Peroxisomal Fatty Acid β -Oxidation and Other Activities Known to be Affected by Peroxisome Proliferators in Mouse Liver. *Pharmacol. Toxicol.* 72, 90–93.

Sollicec, M., Massé, D., Sauvé, S., **2014**. Analysis of trimethoprim, lincomycin, sulfadoxin and tylosin in swine manure using laser diode thermal desorption-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry. *Talanta* 128, 23–30.

Sottolichio, A., Castaing, P., **1999**. A synthesis on seasonal dynamics of highly-concentrated structures in the Gironde estuary. *C.R. Acad. Sci. Sér. II Fasc.A-Sci. Terre Planètes* 329, 795–800.

Soulier, C., **2012**. Présence et devenir des alkylphénols, de leurs dérivés et des composés pharmaceutiques dans les effluents: intérêt des échantillonneurs passifs. Thèse de Doctorat.

Sparr-Eskilsson, C., Björklund, E., **2000**. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *J. Chromatogr. A*, 902, 227–250.

Squadrone, S., Ciccotelli, V., Favaro, L., Scanzio, T., Prearo, M., Abete, M.C., **2014**. Fish consumption as a source of human exposure to perfluorinated alkyl substances in Italy: Analysis of two edible fish from Lake Maggiore. *Chemosphere* 114, 181–186.

Staples, R.E., Burgess, B.A., Kerns, W.D., **1984**. The Embryo–Fetal Toxicity and Teratogenic Potential of Ammonium Perfluorooctanoate (APFO) in the Rat. *Toxicol. Sci.* 4, 429–440.

Stevenson, C.N., MacManus-Spencer, L.A., Luckenbach, T., Luthy, R.G., Epel, D., **2006**. New perspective on perfluorochemical ecotoxicology: Inhibition and induction of an efflux transporter in the marine mussel, *Mytilus californianus*. *Environ. Sci. Technol.* 40, 5580–5585.

Stock, N.L., Furdui, V.I., Muir, D.C.G., Mabury, S.A., **2007**. Perfluoroalkyl contaminants in the Canadian Arctic: evidence of atmospheric transport and local contamination. *Environ. Sci. Technol.* 41, 3529–3536.

Stock, N.L., Muir, D.C.G., Mabury, S., **2010**. Perfluoroalkyl Compounds. Ed. Stuart Harrad. *Persistent organic pollutants*, John Wiley & Sons.

Strynar, M., Dagnino, S., McMahan, R., Liang, S., Lindstrom, A., Andersen, E., McMillan, L., Thurman, M., Ferrer, I., Ball, C., **2015**. Identification of Novel Perfluoroalkyl Ether Carboxylic Acids (PFECAs) and Sulfonic Acids (PFESAs) in Natural Waters Using Accurate Mass Time-of-Flight Mass Spectrometry (TOFMS). *Environ. Sci. Technol.* 49, 11622–11630.

Sumpter, J.P., **1995**. Feminized responses in fish to environmental estrogens. *Toxicol. Lett.* 82-83, 737–742.

Sun, H., Zhang, X., Wang, L., Zhang, T., Li, F., He, N., Alder, A.C., **2012**. Perfluoroalkyl compounds in municipal WWTPs in Tianjin, China—concentrations, distribution and mass flow. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 19, 1405–1415.

Surma, M., Gizejewski, Z., Zieliński, H., **2015**. Determination of perfluorinated sulfonate and perfluorinated acids in tissues of free-living European beaver (*Castor fiber* L.) by d-SPE/micro-UHPLC-MS/MS. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 120, 436–444.

T

Taniyasu, S., Kannan, K., Horii, Y., Hanari, N., Yamashita, N., **2003**. A survey of perfluorooctane sulfonate and related perfluorinated organic compounds in water, fish, birds, and humans from Japan. *Environ. Sci. Technol.* 37, 2634–2639.

Taniyasu, S., Kannan, K., So, M.K., Gulkowska, A., Sinclair, E., Okazawa, T., Yamashita, N., **2005**. Analysis of fluorotelomer alcohols, fluorotelomer acids, and short- and long-chain perfluorinated acids in water and biota. *J. Chromatogr. A* 1093, 89–97.

Tao, L., Kannan, K., Kajiwara, N., Costa, M.M., Fillmann, G., Takahashi, S., Tanabe, S., **2006**. Perfluorooctanesulfonate and Related Fluorochemicals in Albatrosses, Elephant Seals, Penguins, and Polar Skuas from the Southern Ocean. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7642–7648.

Tapie, N., **2006**. Contamination des écosystèmes aquatiques par les PCB et PBDE : Application à l'estuaire de la Gironde. Thèse de Doctorat.

Tapie, N., Le Menach, K., Pasquaud, S., Elie, P., Devier, M.H., Budzinski, H., **2011**. PBDE and PCB contamination of eels from the Gironde estuary: From glass eels to silver eels. *Chemosphere* 83, 175–185.

Tartu, S., Gabrielsen, G.W., Blévin, P., Ellis, H., Bustnes, J.O., Herzke, D., Chastel, O., **2014**. Endocrine and fitness correlates of long-chain perfluorinated carboxylates exposure in arctic breeding black-legged kittiwakes. *Environ. Sci. Technol.* 48, 13504–13510.

Taves, D.R., **1968**. Evidence that there are two forms of fluoride in human serum. *Nature* 217, 1050–1051.

Taylor, P.J., **2005**. Review. Matrix effects: The Achilles heel of quantitative high-performance liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry. *Clin. Biochem.* 38, 328–334.

Teil, M.J., Tlili, K., Blanchard, M., Labadie, P., Alliot, F., Chevreuil, M., **2014**. Polychlorinated Biphenyls, Polybrominated Diphenyl Ethers, and Phthalates in Roach from the Seine River Basin (France): Impact of Densely Urbanized Areas. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 66, 41–57.

Theobald, N., Caliebe, C., Gerwinski, W., Hühnerfuss, H., Lepom, P., **2011**. Occurrence of perfluorinated organic acids in the North and Baltic seas. Part 1: distribution in sea water. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 18, 1057–1069.

Thibeault, G., **2008**. *Etat de l'écosystème aquatique du bassin versant de la rivière Chaudière : faits saillants 2004–2006*. Québec, Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et des Parcs. Direction de suivi de l'état de l'environnement. ISBN 978-2-550-53173-9, 25p. Available online at www.mddelcc.gouv.qc.ca/eau/bassinversant/bassins/chaudiere/FS-Chaudiere.pdf, accessed 2015/09/11.

Thompson, J., Eaglesham, G., Reungoat, J., Poussade, Y., Bartkow, M., Lawrence, M., Mueller, J.F., **2011**. Removal of PFOS, PFOA and other perfluoroalkyl acids at water reclamation plants in South East Queensland Australia. *Chemosphere* 82, 9–17.

Tilley, D.F., **2011**. *Aerobic wastewater treatment processes: history and development*. IWA Publishing.

Tissandier, G., **1886**. Le Fluor. *La Nature* 701, 6 novembre 1886, pp 363–366. Consulté en ligne le 29/09/2015. Lien disponible à partir de <www.reseau-fluor.fr/index.php/fr/domaines-d-application/histoire-du-fluor>.

Tlili, K., Labadie, P., Alliot, F., Bourges, C., Desportes, A., Chevreuil, M., **2012**. Influence of Hydrological Parameters on Organohalogenated Micropollutant (Polybrominated Diphenyl Ethers and Polychlorinated Biphenyls) Behaviour in the Seine (France). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 62, 570–578.

Tolls, J., Sijm, D.T., **1995**. A preliminary evaluation of the relationship between bioconcentration and hydrophobicity for surfactants. *Environ. Toxicol. Chem.* 14, 1675–1685.

Tomy, G.T., Budakowski, W., Halldorson, T., Helm, P.A., Stern, G.A., Friesen, K. Pepper, K., Tittlemier, S.A., Fisk A.T., **2004**. Fluorinated organic compounds in an eastern arctic marine food web. *Environ. Sci. Technol.* 38, 6475–6481.

Tomy, G.T., Pleskach, K., Ferguson, S.H., Hare, J., Stern, G., Macinnis, G., Marvin, C.H., Loseto, L., **2009**. Trophodynamics of some PFCs and BFRs in a western Canadian arctic marine food web. *Environ. Sci. Technol.* 43, 4076–4081.

Transportation Safety Board of Canada (TSB), **2013**. *Railway investigation report R13D0054, Runaway and Main-Track Derailment*. Available online at www.tsb.gc.ca/eng/rapports-reports/rail/2013/r13d0054/r13d0054.asp, accessed 2015/08/21.

TRCA, **2010**. Toronto and Region Conservation Authority. 2010. Etobicoke and Mimico Creeks Watersheds Technical Update Report. Available online at www.trca.on.ca/the-living-city/watersheds/etobicoke-mimico-creek/emwtu2011/04-Baseflow.pdf, accessed 2015/10/11.

Turner, A., Rawling, M.C., **2000**. The behavior of di-(2-ethylhexyl) phthalate in estuaries. *Mar. Chem.* 68, 203–217.

Turner, A., Rawling, M.C., **2001**. The influence of salting out on the sorption of neutral organic compounds in estuaries. *Water Res.* 35, 4379–4389.

Turner, A., Millward, G.E., **2002**. Suspended particles: their role in estuarine biogeochemical cycles. *Estuar. Coast Shelf Sci.* 55, 857–883.

Turner, A., **2003**. Salting out of chemicals in estuaries: implications for contaminant partitioning and modelling. *Sci. Total Environ.* 314, 599–612.

Tuve, R.L., Jablonski, E.J., **1966**. Method of extinguishing liquid hydrocarbon fires. U.S. Patent 3,258,423, June 28, 1966.

U

U.S. Environmental Protection Agency, **2000**. *EPA and 3M announce phase out of PFOS*. 16th May, 2000.

U.S. Environmental Protection Agency. 2010/2015 PFOA Stewardship Program. Available online at <http://www.epa.gov/opptintr/pfoa/pubs/stewardship/>, accessed 2015/05/06.

Ubel, F.A., Sorenson, S.D., Roach, D.E., **1980**. Health status of plant workers exposed to fluorochemicals: A preliminary report. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 41, 584–589.

Ullah, S., Alsberg, T., Berger, U., **2011**. Simultaneous determination of perfluoroalkyl phosphonates, carboxylates, and sulfonates in drinking water. *J. Chromatogr. A* 1218, 6388–6395.

UNEP/POPS/POPRC.6/13/Add.3/Rev.1, United Nations Environmental Program, **2011**. Draft Guidance on alternatives to perfluorooctane sulfonic acid and its derivatives, October 14th, 2011.

United Nations Environmental Program (UNEP), Persistent Organic Pollutants. Available online at chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/ListingofPOPs/tabid/2509/Default.aspx, accessed 2015/09/13.

US EPA. **2009**. Provisional Health Advisories for Perfluorooctanoic Acid (PFOA) and Perfluorooctane Sulfonate (PFOS). Available online at water.epa.gov/action/advisories/drinking/upload/2009_01_15_criteria_drinking_pha-PFOA_PFOS.pdf, accessed 2014/01/11.

V

Vaida, F., Liu, L., **2009**. Fast implementation for normal mixed effects models with censored response. *J. Comput. Graph. Stat.* 18, 797–817.

Valsecchi, S., Rusconi, M., Polesello, S., **2013**. Determination of perfluorinated compounds in aquatic organisms: a review. *Anal. Bioanal. Chem.* 405, 143–157.

Valsecchi, S., Rusconi, M., Mazzoni, M., Viviano, G., Pagnotta, R., Zaghi, C., Serrini, G., Polesello, S. **2015**. Occurrence and sources of perfluoroalkyl acids in Italian river basins. *Chemosphere* 129, 126–134.

Van Ael, E., Covaci, A., Das, K., Lepoint, G., Blust, R., Bervoets, L., **2013**. Factors influencing the bioaccumulation of persistent organic pollutants in food webs of the Scheldt estuary. *Environ. Sci. Technol.* 47, 11221–11231.

Van de Vijver, K.I., Hoff, P.T., Das, K., Van Dongen, W., Esmans, E.L., Siebert, U., Bouquegneau, J.M., Blust, R., De Coen, W.M., **2004**. Baseline study of perfluorochemicals in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from Northern Europe. *Mar. Pollut. Bull.* 48, 992–997.

Van de Vijver, K.I., Hoff, P.T., Van Dongen, W., Esmans, E.L., Blust, R., De Coen, W.M., **2003**. Exposure patterns of perfluorooctane sulfonate in aquatic invertebrates from the Western Scheldt estuary and the southern North Sea. *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 2037–2041.

Van Leeuwen, S.P.J., de Boer, J., **2007**. Extraction and clean-up strategies for the analysis of poly- and perfluoroalkyl substances in environmental and human matrices. *J. Chromatogr. A*, 1153, 172–185.

Van Leeuwen, S.P.J., Kärman, A., Van Bavel, B., De Boer, J., Lindström, G., **2006**. Struggle for quality in determination of perfluorinated contaminants in environmental and human samples. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7854–7860.

Van Leeuwen, S.P.J., Swart, C.P., Van der Veen, I., De Boer, J., **2009**. Significant improvements in the analysis of perfluorinated compounds in water and fish: results from an interlaboratory method evaluation study. *J. Chromatogr. A* 1216, 401–409.

Vedel, A., Riisgård, H.U., **1993**. Filter-feeding in the polychaete *Nereis diversicolor*: growth and bioenergetics. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 100, 145–152.

Venkatesan, A.K., Halden, R.U., **2012**. National inventory of perfluoroalkyl substances in archived U.S. biosolids from the 2001 EPA National Sewage Sludge Survey. *J. Hazard. Mat.* 252–253, 413–418.

Verger, F., **2009**. *Ouverture du Carrefour Scientifique de l'Estuaire*. Actes du 1^{er} Carrefour Scientifique de l'Estuaire. Royan, 11 Juillet 2009.

Verreault, J., Houde, M., Gabrielsen, G.W., Berger, U., Haukas, M., Letcher, R.J., Muir, D.C.G., **2005**. Perfluorinated Alkyl Substances in Plasma, Liver, Brain, and Eggs of Glaucous Gulls (*Larus hyperboreus*) from the Norwegian Arctic. *Environ. Sci. Technol.* 39, 7439–7445.

Verreault, J., Berger, U., Gabrielsen, G.W., **2007**. Trends of perfluorinated alkyl substances in herring gull eggs from two coastal colonies in northern Norway: 1983–2003. *Environ. Sci. Technol.* 41, 6671–6677.

Vestergren, R., Berger, U., Glynn, A., Cousins, I.T., **2012a**. Dietary exposure to perfluoroalkyl acids for the Swedish population in 1999, 2005 and 2010. *Environ. Int.* 49, 120–127.

Vestergren, R., Ullah, S., Cousins, I.T., Berger, U., **2012b**. A matrix effect-free method for reliable quantification of perfluoroalkyl carboxylic acids and perfluoroalkane sulfonic acids at low parts per trillion levels in dietary samples. *J. Chromatogr. A* 1237, 64–71.

Vierke, L., Möller, A., Klitzke, S., **2014**. Transport of perfluoroalkyl acids in a water-saturated sediment column investigated under near-natural conditions. *Environ. Pollut.* 186, 7–13.

Villagrasa, M., López de Alda, M., Barceló, D. Environmental analysis of fluorinated alkyl substances by liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry: a review. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, 386, 953–972.

Villagrasa, M., Guillamón, M., Eljarrat, E., Barceló, D., **2007**. Matrix effect in liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry analysis of benzoxazinoid derivatives in plant material. *J. Chromatogr. A* 1157, 108–114.

Villaverde-de-Sáa, E., Quintana, J.B., Rodil, R., Ferrero-Refojos, R., Rubí, E., Cela, R., **2012**. Determination of perfluorinated compounds in mollusks by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 402, 509–518.

von Bloh, W., Bounama, C., Franck, S., **2003**. Cambrian explosion triggered by geosphere-biosphere feedbacks. *Geophys. Res. Lett.*, 30.

Vulliet, E., Berlioz-Barbier, A., Lafay, F., Baudot, R., Wiest, L., Vauchez, A., Lestremau, F., Botta, F., Cren-Olivé, C., **2014a**. A national reconnaissance for selected organic micropollutants in sediments on French territory. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 11370–11379.

Vulliet, E., Tournier, M., Vauchez, A., Wiest, L., Baudot, R., Lafay, F., Kiss, A., Cren-Olivé, C. **2014b**. Survey regarding the occurrence of selected organic micropollutants in the groundwaters of overseas departments. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 7512–7521.

W

Wang, B., Cao, M., Zhu, H., Chen, J., Wang, L., Liu, G., Gu, X., Lu, X., **2013**. Distribution of perfluorinated compounds in surface water from Hanjiang River in Wuhan, China. *Chemosphere* 93, 468–473.

Wang, F., Shih, K., Ma, R., Li, X.Y., **2015**. Influence of cations on the partition behavior of perfluoroheptanoate (PFHpA) and perfluorohexanesulfonate (PFHxS) on wastewater sludge. *Chemosphere* 131, 178–183.

Wang, J., Chow, W., Leung, D., Chang, J., **2012**. Application of Ultrahigh-Performance Liquid Chromatography and Electrospray Ionization Quadrupole Orbitrap High-Resolution Mass Spectrometry for Determination of 166 Pesticides in Fruits and Vegetables. *J. Agric. Food. Chem.*, 60, 12088–12104.

Wang, N., Szostek, B., Buck, R.C., Folsom, P.W., Sulecki, L.M., Gannon, J.T., **2009**. 8-2 fluorotelomer alcohol aerobic soil biodegradation: pathways, metabolites, and metabolite yields. *Chemosphere* 75, 1089–1096.

Wang, N., Liu, J., Buck, R.C., Korzeniowski, S.H., Wolstenholme, B.W., Folsom, P.W., Sulecki, L.M. **2011**. 6:2 fluorotelomer sulfonate aerobic biotransformation in activated sludge of waste water treatment plants. *Chemosphere* 82, 853–858.

Wang, S., Wang, H., Deng, W., **2013**. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) distribution and effect factors in the water and sediment of the Yellow River Estuary, China. *Environ. Monit. Assess.* 185, 8517–8524.

Wang, T., Khim, J.S., Chen, C., Naile, J.E., Lu, Y., Kannan, K., Park, J., Luo, W., Jiao, W., Hu, W., Giesy, J.P., **2012**. Perfluorinated compounds in surface waters from Northern China: Comparison to level of industrialization. *Environ. Int.* 42, 37–46.

Wang, Z., Cousins, I.T., Scheringer, M., Hungerbühler, K., **2013**. Fluorinated alternatives to long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids (PFCAs), perfluoroalkane sulfonic acids (PFSA) and their potential precursors. *Environ. Int.* 60 (2013), 242–248.

Wang, Z., Cousins, I.T., Scheringer, M., Buck, R.C., Hungerbühler, K., **2014**. Global emission inventories for C₄–C₁₄ perfluoroalkyl carboxylic acid (PFCA) homologues from 1951 to 2030, Part I: production and emissions from quantifiable sources. *Environ. Int.* 70, 62–75.

Wang, Z., Cousins, I.T., Scheringer, M., Hungerbühler, K., **2015**. Hazard assessment of fluorinated alternatives to long-chain perfluoroalkyl acids (PFAAs) and their precursors: Status quo, ongoing challenges and possible solutions. *Environ. Int.* 75, 172–179.

Wei, S., Chen, L.Q., Taniyasu, S., Soa, M.K., Murphy, M.B., Yamashita, N., Yeung, L.W.Y., Lam, P.K.S., **2007**. Distribution of perfluorinated compounds in surface seawaters between Asia and Antarctica. *Mar. Pollut. Bull.* 54, 1813–1818.

Weiner, B., Yeung, L.W., Marchington, E.B., D'Agostino, L.A., Mabury, S.A., **2013**. Organic fluorine content in aqueous film forming foams (AFFFs) and biodegradation of the foam component 6: 2 fluorotelomermercaptoalkylamido sulfonate (6:2 FTSAS). *Environ. Chem.* 10, 486–493.

Weiss, J.M., van der Veen, I., de Boer, J., van Leeuwen, S.P.J., Cofino, W., Crum, S., **2013**. Analytical improvements shown over four interlaboratory studies of perfluoroalkyl substances in environmental and food samples. *TrAC* 43, 204–216.

Weimerskirch, H., Tarroux, A., Chastel, O., Delord, K., Cherel, Y., Descamps, S. In press. Population-specific wintering distributions of adult south polar skuas over the three oceans. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*

Weissenborn, A., **1939**. Method of producing air foam. U.S. Patent No. 2 151 398, March 21, 1939.

Wickbold, R., **1954**. Die quantitative Verbrennung Fluor-haltiger organischer Substanzen. *Angewandte Chemie* 66, 173–174.

Wilhelm, M., Hölzer, J., Dobler, L., Rauchfuss, K., Midasch, O., Kraft, M., Angerer, J., Wiesmüller, G., **2009**. Preliminary observations on perfluorinated compounds in plasma samples (1977–2004) of young German adults from an area with perfluorooctanoate-contaminated drinking water. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 212, 142–145.

White, N.D., Balthis, L., Kannan, K., De Silva, A.O., Wu, Q., French, K.M., Daugomah, J., Spencer, C., Fair, P.A., **2015**. Elevated levels of perfluoroalkyl substances in estuarine sediments of Charleston, SC. *Sci. Total Environ.* 521–522, 79–89.

Wolf, C.J., Schmid, J.E., Lau, C., Abbott, B.D., **2012**. Activation of Mouse and Human Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Alpha (PPAR α) by Perfluoroalkyl Acids (PFAAs): Further Investigation of C₄–C₁₂ Compounds. *Reprod. Toxicol.* 33, 546–551.

Writer, J.H., Barber, L.B., Ryan, J.N., Bradley, P.M., **2011**. Biodegradation and Attenuation of Steroidal Hormones and Alkylphenols by Stream Biofilms and Sediments. *Environ. Sci. Technol.* 45, 4370–4376.

Wu, J., Hughes, C.S., Picard, P., Letarte, S., Gaudreault, M., Lévesque, J.F., Nicoll-Griffith, D.A., Bateman, K.P., **2007**. High-Throughput Cytochrome P450 Inhibition Assays Using Laser Diode Thermal Desorption-Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Chem.*, 79, 4657–4665.

Wund, P., **2013**. Développements d'échantillonneurs passifs pour l'étude de la contamination des eaux par les micropolluants organiques. Thèse de Doctorat.

X

Xia, X., Rabearisoa, A.H., Dai, Z., Jiang, X., Zhao, P., Wang, H., **2015**. Inhibition effect of Na⁺ and Ca²⁺ on the bioaccumulation of perfluoroalkyl substances by *Daphnia Magna* in the presence of protein. *Environ. Toxicol. Chem.* 34, 429–436.

Xiao, F., Halbach, T.R., Simcik, M.F., Gulliver, J.S., **2012**. Input characterization of perfluoroalkyl substances in wastewater treatment plants: Source discrimination by exploratory data analysis. *Water Res.* 44, 3101–3109.

Xiao, F., Simcik, M.F., Halbach, T.R., Gulliver, J.S., **2015**. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in soils and groundwater of a U.S. metropolitan area: Migration and implications for human exposure. *Water Res.* 72, 64–74.

Xie, S., Wang, T., Liu, S., Jones, K.C., Sweetman, A.J., Lu, Y., **2013**. Industrial source identification and emission estimation of perfluorooctane sulfonate in China. *Environ. Int.* 52, 1–8.

Xu, J., Guo, C.S., Zang, Y., Meng, W., **2014**. Bioaccumulation and trophic transfer of perfluorinated compounds in a eutrophic freshwater food web. *Environ. Pollut.* 184, 254–261.

Xu, J., Tian, Y.Z., Zhang, Y., Guo, C.S., Shi, G.L., Zhang, C.Y., Feng, Y.C., **2013**. Source apportionment of perfluorinated compounds (PFCs) in sediments: Using three multivariate factor analysis receptor models. *J. Hazard. Mater.* 260, 483–488.

Xu, W., Wang, X., Cai, Z., **2013**. Analytical chemistry of the persistent organic pollutants identified in the Stockholm Convention: A review. *Anal. Chim. Acta*, 790, 1–13.

Y

Yamada, A., Bemrah, N., Veyrand, B., Pollono, C., Merlo, M., Desvignes, V., Sirot, V., Marchand, P., Berrebi, A., Cariou, R., Antignac, J.P., Le Bizec, B., Leblanc, J.C., **2014a**. Dietary exposure to perfluoroalkyl acids of specific French adult sub-populations: high seafood consumers, high freshwater fish consumers and pregnant women. *Sci. Total Environ.* 491, 170–175.

Yamada, A., Bemrah, N., Veyrand, B., Pollono, C., Merlo, M., Desvignes, V., Sirot, V., Oseredczuk, M., Marchand, P., Cariou, R., Antignac, J.P., Le Bizec, B., Leblanc, J.C., **2014b**. Perfluoroalkyl Acid Contamination and Polyunsaturated Fatty Acid Composition of French Freshwater and Marine Fishes. *J. Agricult. Food Chem.* 62, 7593–7603.

Yamashita, N., Kannan, K., Taniyasu, S., Horii, Y., Okazawa, T., Petrick, G., Gamo, T., **2004**. Analysis of perfluorinated acids at parts-per-quadrillion levels in seawater using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5522–5528.

Yamashita, N., Kannan, K., Taniyasu, S., Horii, Y., Petrick, G., Gamo, T., **2005**. A global survey of perfluorinated acids in oceans. *Mar. Pollut. Bull.* 51, 658–668.

Yamashita, N., Taniyasu, S., Petrick, G., Wei, S., Gamo, T., Lam, P.K.S., **2008**. Perfluorinated acids as novel chemical tracers of global circulation of ocean waters. *Chemosphere* 70, 1247–1255.

Yan, H., Zhang, C.J., Zhou, Q., Chen, L., Meng, X.Z., **2012**. Short- and long-chain perfluorinated acids in sewage sludge from Shanghai, China. *Chemosphere* 88, 1300–1305.

Yang, L., Zhu, L., Liu, Z., **2011**. Occurrence and partition of perfluorinated compounds in water and sediment from Liao River and Taihu Lake, China. *Chemosphere* 83, 806–814.

Yao, Y., Zhu, H., Li, B., Hu, H., Zhang, T., Yamazaki, E., Taniyasu, S., Yamashita, N., Sun, H., **2014**. Distribution and primary source analysis of per- and poly-fluoroalkyl substances with different chain lengths in surface and groundwater in two cities, North China. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 108, 318–328.

Yeung, L.W.Y., De Silva, A.O., Loi, E.I.H., Marvin, C.H., Taniyasu, S., Yamashita, N., Mabury, S.A., Muir, D.C.G., Lam, P.K.S., **2013**. Perfluoroalkyl substances and extractable organic fluorine in surface sediments and cores from Lake Ontario. *Environ. Int.* 59, 389–397.

Yeung, L.W.Y., So, M.K., Jiang, G., Taniyasu, S., Yamashita, N., Song, M., Wu, Y., Li, J., Giesy, J.P., Guruge, K.S., Lam, P.K.S., **2006**. Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in human blood samples from China. *Environ. Sci. Technol.* 40, 715–720.

Yeung, L.W.Y., Mabury, S.A., **2013**. Bioconcentration of Aqueous Film-Forming Foam (AFFF) in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Sci. Technol.* 47, 12505–12513.

Yeung, L.W.Y., Miyake, Y., Taniyasu, S., Wang, Y., Yu, H., So, M.K., Jiang, G., Wu, Y., Li, J., Giesy, J.P., Yamashita, N., Lam, P.K.S., **2008**. Perfluorinated compounds and total and extractable organic fluorine in human blood samples from China. *Environ. Sci. Technol.* 42, 8140–8145.

Yeung, L.W.Y., Miyake, Y., Wang, Y., Taniyasu, S., Yamashita, N., Lam, P.K.S., **2009**. Total fluorine, extractable organic fluorine, perfluorooctane sulfonate and other related fluorochemicals in liver of Indo-Pacific humpback dolphins (*Sousa chinensis*) and finless porpoises (*Neophocaena phocaenoides*) from South China. *Environ. Pollut.* 157, 17–23.

Z

Zabaleta, I., Bizkarguenaga, E., Iparragirre, A., Navarro, P., Prieto, A., Fernández, L.A., Zuloaga, O., **2014**. Focused ultrasound solid–liquid extraction for the determination of perfluorinated compounds in fish, vegetables and amended soil. *J. Chromatogr. A* 1331, 27–37.

Zabaleta, I., Bizkarguenaga, E., Prieto, A., Ortiz-Zarragoitia, M., Fernández, L.A., Zuloaga, O., **2015**. Simultaneous determination of perfluorinated compounds and their potential precursors in mussel tissue and fish muscle tissue and liver samples by liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1387, 13–23.

Zareitalabad, P., Siemens, J., Hamer, M., Amelung, W., **2013**. Perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) in surface waters, sediments, soils and wastewater – A review on concentrations and distribution coefficients. *Chemosphere* 91, 725–732.

Zhang, C., Yan, H., Li, F., Hu, X., Zhou, Q., **2013**. Sorption of short- and long-chain perfluoroalkyl surfactants on sewage sludges. *J. Hazard. Mat.* 260, 689–699.

Zhang, C., Yan, H., Li, F., Zhou, Q., **2015**. Occurrence and fate of perfluorinated acids in two wastewater treatment plants in Shanghai, China. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 1804–1811.

Zhang, L., Liu, J., Hu, J., Liu, C., Guo, W., Wang, Q., Wang, H., **2012**. The inventory of sources, environmental releases and risk assessment for perfluorooctane sulfonate in China. *Environ. Pollut.* 165, 193–198.

Zhang, T., Creek, D. J., Barrett, M.P., Blackburn, G., Watson, D.G., **2012**. Evaluation of coupling reversed phase, aqueous normal phase, and hydrophilic interaction liquid chromatography with orbitrap mass spectrometry for metabolomic studies of human urine. *Anal. Chem.*, 84, 1994–2001.

Zhang, W., Zhang, Y., Taniyasu, S., Yeung, L.W.Y., Lam, P.K.S., Wang, J., Li, X., Yamashita, N., Dai, J., **2013**. Distribution and fate of perfluoroalkyl substances in municipal wastewater treatment plants in economically developed areas of China. *Environ. Pollut.* 176, 10–17.

Zhang, Y., Meng, W., Guo, C., Xu, J., Yu, T., Fan, W., Li, L., **2012**. Determination and partitioning behavior of perfluoroalkyl carboxylic acids and perfluorooctanesulfonate in water and sediment from Dianchi Lake, China. *Chemosphere* 88, 1292–1299.

Zhao, L., Folsom, P.W., Wolstenholme, B.W., Sun, H., Wang, N., Buck, R.C. **2013**. 6:2 Fluorotelomer alcohol biotransformation in an aerobic river sediment system. *Chemosphere* 90, 203–209.

Zhao, X., Xia, X., Zhang, S., Wu, Q., Wang, X., **2014**. Spatial and vertical variations of perfluoroalkyl substances in sediments of the Haihe River, China. *J. Environ. Sci.* 26, 1557–1566.

Zhao, Z., Tang, J., Xie, Z., Chen, Y., Pan, X., Zhong, G., Sturm, R., Zhang, G., Ebinghaus, R., **2013**. Perfluoroalkyl acids (PFAAs) in riverine and coastal sediments of Laizhou Bay, North China. *Sci. Total Environ.* 447, 415–423.

Zhao, Z., Xie, Z., Möller, A., Sturm, R., Tang, J., Zhang, G., Ebinghaus, R., **2012**. Distribution and long-range transport of polyfluoroalkyl substances in the Arctic, Atlantic Ocean and Antarctic coast. *Environ. Pollut.* 170, 71–77.

Zhao, Z., Xie, Z., Tang, J., Sturm, R., Chen, Y., Zhang, G., Ebinghaus, R., **2015a**. Seasonal variations and spatial distributions of perfluoroalkyl substances in the rivers Elbe and lower Weser and the North Sea. *Chemosphere*, 129, 118–125.

Zhao, Z., Xie, Z., Tang, J., Zhang, G., Ebinghaus, R., **2015b**. Spatial distribution of perfluoroalkyl acids in surface sediments of the German Bight, North Sea. *Sci. Total Environ.* 511, 145–152.

Zhi, Y., Liu, J., **2015**. Adsorption of perfluoroalkyl acids by carbonaceous adsorbents: Effect of carbon surface chemistry. *Environ. Pollut.* 202, 168–176.

Zhu, Z., Wang, T., Wang, P., Lu, Y., Giesy, J.P., **2014**. Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in sediments from South Bohai coastal watersheds, China. *Marine Poll. Bull.* 85, 619–627.

Zubarev, R.A., Makarov, A., **2013**. Orbitrap Mass Spectrometry. *Anal. Chem.*, 85, 5288–5296.

ANNEXES

ANNEXES

Scripts utilisés sous R.....	p 467
Résultats du programme Orque-Sudoe.....	p 476
Annexes du Chapitre III.2.....	p 483
Annexes du Chapitre III.3.....	p 496
Annexes du Chapitre IV.1.....	p 514
Annexes du Chapitre IV.2.....	p 544
Annexes du Chapitre IV.3.....	p 551
Annexes du Chapitre V.1.....	p 574
Annexes du Chapitre V.2.....	p 588
Annexes du Chapitre V.3.....	p 605
Annexes du Chapitre VI.1.....	p 631
Annexes du Chapitre VI.2.....	p 653

SCRIPTS UTILISÉS SOUS R

Surfaces de réponse (ex : package **rsm**)

Exemple pour l'optimisation du chargement de l'échantillon en SPE en ligne

Objectif : représenter les surfaces de réponse à partir des résultats du plan d'expérience

Vous devez avoir préalablement installé le logiciel R (ou R Studio) sur votre poste.

```
> install.packages("rsm") #chargement du package rsm
```

```
> library("rsm") #activation du package rsm
```

```
> DataSet_Compound <- read.delim("~/Folder/DataSet_Compound.txt")
```

#DataSet_Compound: tableau contenant les valeurs des facteurs examinés dans notre plan factoriel complet 3^2 , à savoir le volume d'extrait injecté (Volume_Injected) et le débit de chargement (Flow_Rate) pour l'optimisation des paramètres de chargement en SPE en ligne, et l'aire relative du composé obtenue pour chaque condition du plan d'expérience (Compound_Relative_Area).

#Chaque facteur x_i peut prendre trois valeurs : -1, 0 ou +1. Pour obtenir la conversion à partir des niveaux en unités réelles, on soustrait à chaque niveau la valeur centrale et on divise par le « pas » entre deux niveaux consécutifs. Par exemple, dans le plan d'expérience choisi le volume injecté comportait trois niveaux : 200, 400 et 600 μL . Donc $x_1 = (V - 400)/200$, avec $V = 200, 400$ ou 600 . On procède de même pour x_2 (voir ci-dessous).

```
> Compound <- coded.data(DataSet_Compound, x1 ~ (Volume_Injected-400)/200, x2 ~ (Flow_Rate-600)/400)
```

Modélisation de l'aire relative du composé en fonction des valeurs des paramètres x_1 et x_2 selon un modèle du second ordre (SO) :

```
> LDTD.rsm <- rsm(Compound_Relative_Area ~ SO(x1,x2), data = Compound)
```

```
> summary(LDTD.rsm) #caractéristiques du modèle
```

```
> contour(LDTD.rsm, ~x1+x2, image=TRUE, main="Compound") #obtention des surfaces de réponse
```

Modélisation de l'aire relative du composé en fonction des valeurs des paramètres x_1 et x_2 selon un modèle du premier ordre (FO) :

```
> LDTD.rsm <- rsm(Compound_Relative_Area ~ FO(x1,x2), data = Compound)
```

```
> summary(LDTD.rsm) #caractéristiques du modèle
```

```
> contour(LDTD.rsm, ~x1+x2, image=TRUE, main="Compound") #obtention des surfaces de réponse
```


Calcul de statistiques descriptives sous NADA

Objectif : obtenir la moyenne, la médiane et l'écart-type d'une série de données (ex : concentrations) comportant des valeurs censurées à gauche (<LD)

Vous devez avoir préalablement installé le logiciel R (ou R Studio) sur votre poste.

```
> install.packages("NADA") #chargement du package NADA
```

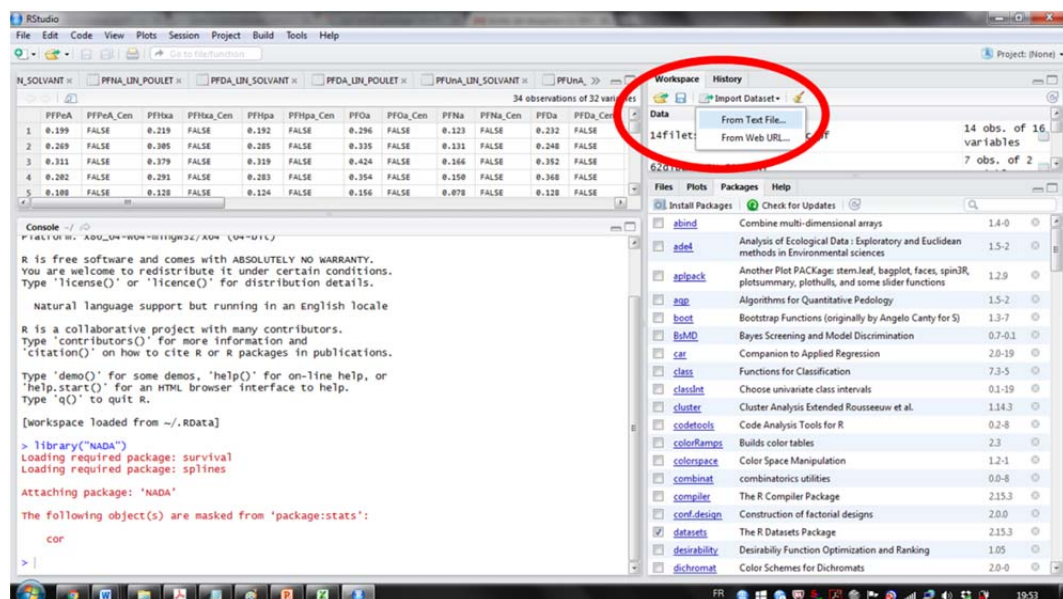
```
> library("NADA") #activation du package NADA
```

#mise en forme des données sous Excel → concentrations du contaminant à l'étude (« Concentration ») et vecteur associé contenant l'information sur la censure à gauche des données (<LOD) (« Concentration_Cen »), indiquant « TRUE » lorsque la donnée est <LOD et « FALSE » dans le cas contraire (voir ci-dessous un exemple fictif).

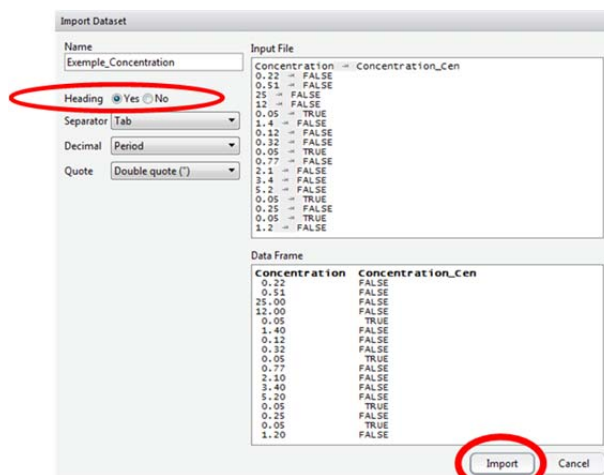
Concentration	Concentration_Cen
0.22	FALSE
0.51	FALSE
25	FALSE
12	FALSE
0.05	TRUE
1.4	FALSE
0.12	FALSE
0.32	FALSE
0.05	TRUE
0.77	FALSE
2.1	FALSE
3.4	FALSE
5.2	FALSE
0.05	TRUE
0.25	FALSE
0.05	TRUE
1.2	FALSE

#Copier-coller le tableau de données sous le bloc-notes et enregistrer sous « Exemple_Concentration.txt »

#Importer le jeu de données sous R Studio (Workspace > Import Dataset > From text file) :



#après avoir sélectionné « Heading/Yes » (voir ci-dessous), cliquer sur « Import »



#les lignes de code suivantes apparaissent sur la console :

```
> Exemple_Concentration <- read.delim("~/Folder/Exemple_Concentration.txt")
> View(Exemple_Concentration)
```

#données à considérer pour la session de calcul sous NADA :

```
> attach(Exemple_Concentration)
```

#détermination des statistiques descriptives sous NADA avec cenros (ROS) et cenfit (Kaplan-Meier) :

```
> cenros(Concentration, Concentration_Cen) #ROS
> cenfit(Concentration, Concentration_Cen) #Kaplan-Meier
> detach(Exemple_Concentration)
```

```
Console ~/
> attach(Exemple_Concentration)
> cenros(Concentration, Concentration_Cen)
      n      n.cen    median      mean      sd
17.000000  4.000000  0.510000  3.094523  6.391900
> cenfit(Concentration, Concentration_Cen)
      n      n.cen    median      mean      sd
17.000000  4.000000  0.510000  3.115882  6.443381
>
```

#n : effectif total ; n.cen : nombre de valeurs censurées (<LD) ; median : médiane ; mean : moyenne ; sd : écart-type.

#noter que les statistiques descriptives de différentes approches de traitement des données censurées sous NADA peuvent s'obtenir directement avec la fonction **censtats** qui renvoie le résultat de l'estimateur du maximum de vraisemblance « MLE » (**cenmle**), de Kaplan Meier « K-M » (**cenfit**), et de la régression robuste sur les statistiques d'ordre « ROS » (**cenros**) :

```
> censtats(Concentration, Concentration_Cen)
```

Différences entre groupes sous NADA (*cenboxplot*, *cendiff*)

Exemple : comparaison des concentrations (PFOA en phase dissoute) entre les trois campagnes d'échantillonnage de la campagne prospective de 2012 en France métropolitaine

Préparation des données (PFOA_Campagnes)

- Colonne 1 (PFOA) : concentrations du PFOA en phase dissoute
- Colonne 2 (PFOA_Cen) : colonne comprenant l'indication « TRUE » pour les données censurées (<LD) et « FALSE » dans le cas contraire
- Colonne 3 (Campagne) : colonne comprenant l'information du numéro de campagne pour chaque échantillon (« first », « second », « third »)

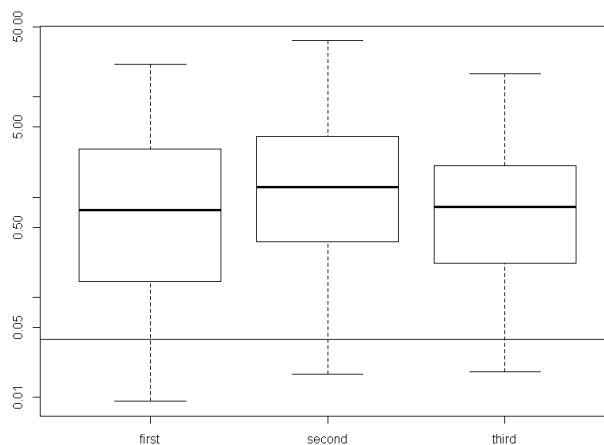
Script R proposé

```
> PFOA_Campagnes <- read.delim("~Folder/ PFOA_Campagnes.txt", dec=",")
> attach(PFOA_Campagnes)
```

```
> library("NADA")
> cenfit (PFOA, PFOA_Cen, Campagne) #statistiques descriptives pour chaque campagne (ex : K-M)
```

	n	n. cen	medi an	mean	sd
Campagne=fi rst	96	19	0. 6825253	2. 396160	3. 916667
Campagne=second	112	15	1. 2524566	3. 426808	5. 761279
Campagne=thi rd	114	20	0. 7539969	1. 895958	2. 964864

```
> cenboxplot(PFOA, PFOA_Cen, Campagne) #diagrammes à moustache
```



```
> cendiff(PFOA, PFOA_Cen, Campagne) #différence significative ?
```

#p-value = 0,0632 > 0,05 → pas de différence significative entre les trois campagnes en ce qui concerne la concentration moyenne du PFOA en phase dissoute

#dans le cas où la fréquence de détection est de 100%, on pourra par exemple utiliser des tests paramétriques (ex : **aov.out**) ou non-paramétriques (ex : **kruskal.test**)

```
> detach(PFOA_Campagnes)
> attach (PFOS_Campagnes)
```

```
> shapiro.test(resid(aov(PFOS~Campagne))) #vérification de la condition de normalité
> aov.out=aov(PFOS~Campagne,data= PFOS_Campagnes) #analyse de variance
> summary(aov.out)
> kruskal.test(PFOS~Campagne) #test non-paramétrique de Kruskal Wallis, p = 0.0708 > 0.05
```

Régression sous NADA (ex : *cenken*)

Exemple : estimation du facteur de bioamplification par voie trophique (TMF) avec *cenken*

Objectif : obtenir les paramètres de la régression linéaire entre le niveau trophique (« TL ») et le logarithme de la concentration en contaminant (« LogC ») dans un réseau trophique (exemple fictif), par une méthode permettant de prendre en compte les valeurs censurées (<LD), par exemple la fonction *cenken* du package NADA.

Vous devez avoir préalablement installé le logiciel R (ou R Studio) sur votre poste.

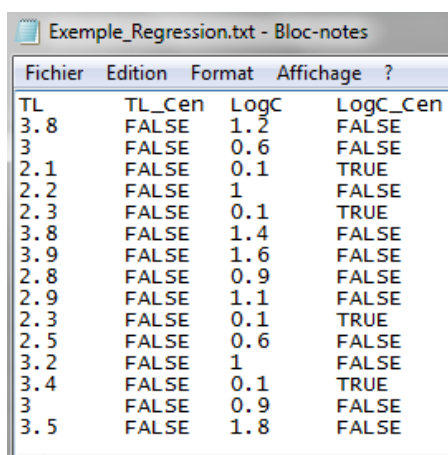
```
> library("NADA") #activation du package NADA
```

Préparation des données (Exemple_Regression)

- Colonne 1 (TL) : valeurs de niveau trophique par échantillon biologique
- Colonne 2 (TL_Cen) : colonne comprenant l'indication « FALSE » pour les données de TL censurées (<LD) et « TRUE » dans le cas contraire (pas de valeurs censurées pour le TL dans ce cas)
- Colonne 3 (LogC) : valeurs du logarithme de la concentration en contaminant
- Colonne 4 (LogC_Cen) : colonne comprenant l'indication « FALSE » pour les données de LogC censurées (<LD) et « TRUE » dans le cas contraire

TL	TL_Cen	LogC	LogC_Cen
3.8	FALSE	1.2	FALSE
3	FALSE	0.6	FALSE
2.1	FALSE	0.1	TRUE
2.2	FALSE	1	FALSE
2.3	FALSE	0.1	TRUE
3.8	FALSE	1.4	FALSE
3.9	FALSE	1.6	FALSE
2.8	FALSE	0.9	FALSE
2.9	FALSE	1.1	FALSE
2.3	FALSE	0.1	TRUE
2.5	FALSE	0.6	FALSE
3.2	FALSE	1	FALSE
3.4	FALSE	0.1	TRUE
3	FALSE	0.9	FALSE
3.5	FALSE	1.8	FALSE

#copier-coller le tableau de données sur le bloc-notes et enregistrer sous « Exemple-Regression.txt »



TL	TL_Cen	LogC	LogC_Cen
3.8	FALSE	1.2	FALSE
3	FALSE	0.6	FALSE
2.1	FALSE	0.1	TRUE
2.2	FALSE	1	FALSE
2.3	FALSE	0.1	TRUE
3.8	FALSE	1.4	FALSE
3.9	FALSE	1.6	FALSE
2.8	FALSE	0.9	FALSE
2.9	FALSE	1.1	FALSE
2.3	FALSE	0.1	TRUE
2.5	FALSE	0.6	FALSE
3.2	FALSE	1	FALSE
3.4	FALSE	0.1	TRUE
3	FALSE	0.9	FALSE
3.5	FALSE	1.8	FALSE

Script R proposé

```
>library ("NADA")
```

#importer le jeu de données sous R Studio (Workspace > Import Dataset > From text file > Import) :

```
> Exemple_Regression <- read.delim("~/ACP_16June2015/Exemple_Regression.txt")
```

#obtenir les paramètres de la régression avec cenken – N.B. : Lorsque l'on veut faire une approche de régression $Y = f(X)$ par cenken, il faut bien penser à indiquer Y, Y_Cen avant X, X_Cen.

```
> reg = with(Exemple_Regression, cenken(LogC, LogC_Cen, TL, TL_Cen))
```

```
> reg
```

```
> Exemple_Regression
  TL TL_Cen LogC LogC_Cen
1  3.8 FALSE  1.2  FALSE
2  3.0 FALSE  0.6  FALSE
3  2.1 FALSE  0.1   TRUE
4  2.2 FALSE  1.0  FALSE
5  2.3 FALSE  0.1   TRUE
6  3.8 FALSE  1.4  FALSE
7  3.9 FALSE  1.6  FALSE
8  2.8 FALSE  0.9  FALSE
9  2.9 FALSE  1.1  FALSE
10 2.3 FALSE  0.1   TRUE
11 2.5 FALSE  0.6  FALSE
12 3.2 FALSE  1.0  FALSE
13 3.4 FALSE  0.1   TRUE
14 3.0 FALSE  0.9  FALSE
15 3.5 FALSE  1.8  FALSE
> reg = with(Exemple_Regression, cenken(LogC, LogC_Cen, TL, TL_Cen))
> reg
slope
[1] 0.75

intercept
[1] -1.4

tau
[1] 0.5142857

p
[1] 0.007336429
```

#dans les sorties de la fonction, on trouve la pente (ici, **slope** = 0.75), l'ordonnée à l'origine (ici, **intercept** = - 1.4), le tau de Kendall de la régression (coefficient de corrélation sur les rangs entre les 2 variables, compris entre -1 et 1)(ici, **tau** = 0.51) et la p-value associée à la régression (ici **p** = 0.0073 ≤ 0.05 →significatif)

#sur ce jeu de données fictif on en déduit le TMF

```
> TMF <- 10^reg$slope
```

```
> TMF
```

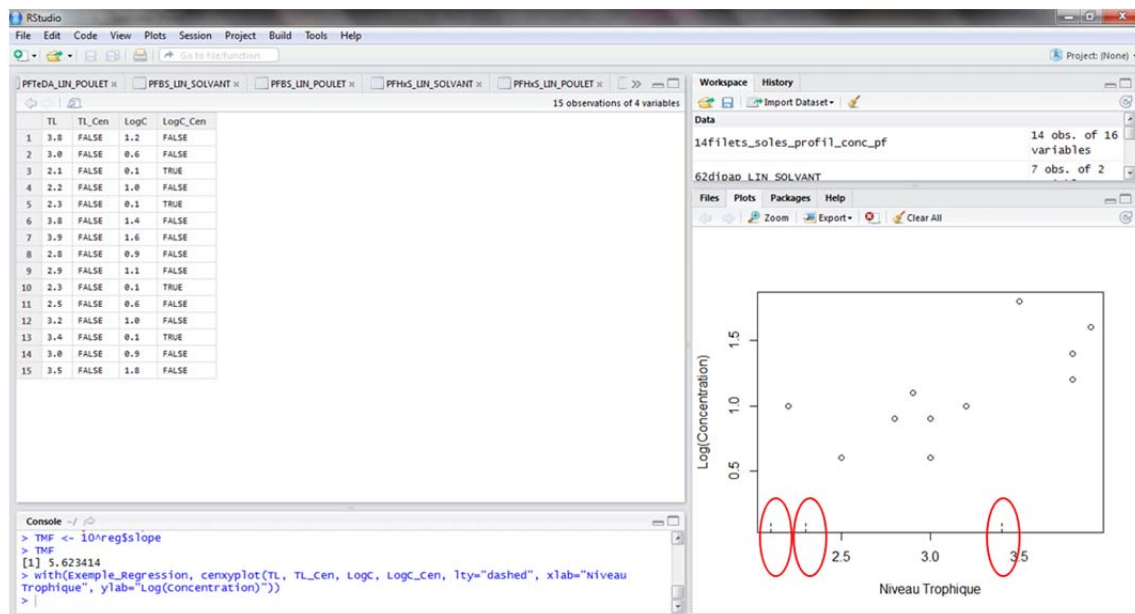
```
#TMF = 5.62 > 1
```

#représentation graphique du nuage de points – rentrer le code suivant dans la console :

```
> with(Exemple_Regression, cenxyplot(TL, TL_Cen, LogC, LogC_Cen, lty="dashed", xlab="Niveau Trophique", ylab="Log(Concentration)"))
```

#remarque : dans le cas de cenxyplot, c'est l'inverse de cenken en ce qui concerne l'ordre d'appel de X et Y pour une régression $Y=f(X)$: cenxyplot (X, X_Cen, Y, Y_Cen).

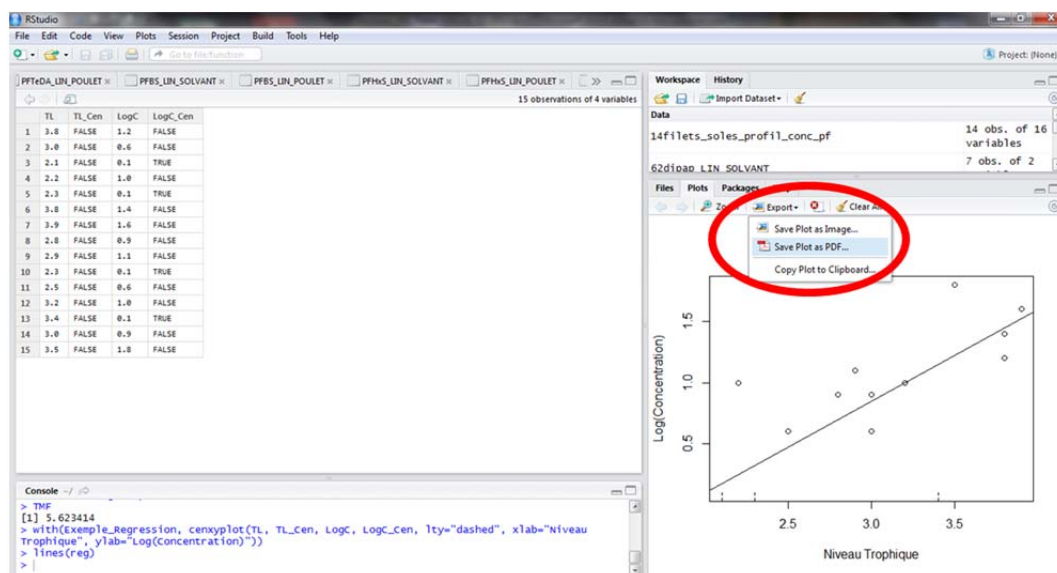
#« lty = dashed » → Fait apparaître en pointillés les valeurs censurées (Cf. ci-dessous).



#ajouter la droite de régression (Akritas Theil Shen : « ATS line ») au graphe précédent :

```
> lines(reg)
```

#exporter en format pdf : Plot > Export > Save Plot as PDF



#sélectionner par exemple PDF Size>A5 et Orientation>Portrait

Régression multiple sous NADA (ex : *cenreg*)

Exemple d'application sur les facteurs de contrôle des niveaux de PFAS sédimentaires

Objectif : Examiner l'influence combinée des paramètres accompagnateurs du sédiment, à savoir X_1 = fraction de carbone organique du sédiment (f_{oc}) et X_2 = granulométrie (fraction argileuse, silt content) sur les teneurs sédimentaires de PFAS (Y), à partir du jeu de données de la campagne prospective de 2012.

Valeurs censurées :

- Certaines teneurs de PFAS dans le sédiment sont inférieures aux LOD
- Pour certaines stations l'Ineris rapporte « < 0.4 % » pour la valeur de f_{oc}

Fonctions disponibles sous NADA : *cenmle/cenreg* (paramétrique) et *cenken* (non-paramétrique).

Avantages et inconvénients de *cenmle/cenreg*: Peut être utilisé pour des régressions multiples ($Y = f(X_1, X_2)$), mais le traitement statistique des valeurs < LOD est uniquement applicable à Y . Dans ce cas, comme nous avons également X_1 avec des valeurs < LOD nous avons dû substituer pour cette variable explicative.

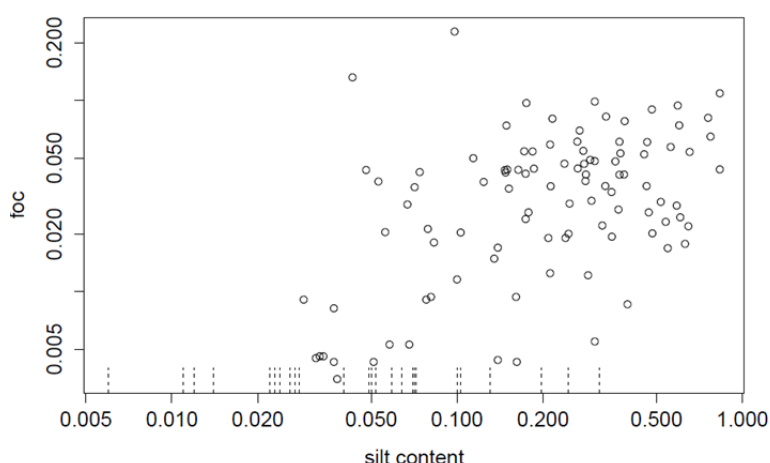
Avantages et inconvénients de *cenken* (Helsel, 2012): "A major advantage of the ATS slope estimator over the MLE estimator is that ATS can be computed for doubly censored data, where X and Y are both censored. A major disadvantage of the ATS estimator is that the procedure has not yet been generalized to multiple X variables, and so for now is only available in the context of one explanatory variable." Le traitement statistique des valeurs < LOD est applicable dans le cas où on explique séparément $Y = f(X_1)$ ou $Y = f(X_2)$, Y , X_1 , et X_2 pouvant avoir des valeurs < LOD, mais pas pour une régression multiple $Y = f(X_1, X_2)$.

⇒ Ex : choix de *cenreg* pour la régression multiple

Procédure :

1) Représenter $X_1 = f(X_2)$

$n=126/129$ car certaines valeurs manquantes pour X_1 ou X_2



Pas de colinéarité apparente entre X_1 et X_2 , ces deux paramètres ont donc été conservés pour la régression multiple.

2) Calcul de la moyenne et de l'écart-type pour f_{oc} (X_1) et granulométrie (X_2) par cenros.

3) Centrer-réduire les variables : $X_i \leftarrow (X_i - \text{mean})/\text{SD}$.

4) Standardiser les teneurs dans le sédiment (exemple du PFOS linéaire, L-PFOS):

$Y \leftarrow Y + 1$

5) Régression multiple avec *cenreg* :

```
> cenreg(Cen(L_PFOS, L_PFOScen)~FINES+FOC)
```

```
> cenreg(Cen(L_PFOS, L_PFOScen)~FINES+FOC)
```

	Value	Std. Error	z	p
(Intercept)	0.225	0.0548	4.10	4.21e-05
FINES	0.075	0.0581	1.29	1.97e-01
FOC	0.121	0.0585	2.07	3.83e-02
Log(scale)	-0.548	0.0764	-7.17	7.50e-13

Scale = 0.578

Log Normal distribution

Loglik(model)= -149.3 Loglik(intercept only)= -153.8

Loglik-r: 0.263329

Chisq= 9.05 on 2 degrees of freedom, p= 0.011

Number of Newton-Raphson Iterations: 3

n = 126

$p = 0.011 \leq 0.05 \Rightarrow$ Ce modèle de 2 variables peut être considéré comme significatif.

Un modèle proposé pour expliquer les concentrations sédimentaires de L-PFOS est finalement :

$$\text{Ln}(1 + C_{\text{L-PFOS, sediment}}) = 0.225 + 0.121 X_1 + 0.075 X_2$$

X_1 et X_2 contribuent positivement au modèle \Rightarrow richesse en matière organique et granulométrie fine du sédiment vont de pair avec des teneurs élevées dans le sédiment

Dans ce modèle, seul le coefficient associé à X_1 est significativement différent de 0 ($p < 0.05$). L'erreur sur le coefficient associé à X_2 est relativement importante 0.058 (du même ordre de grandeur que la propre valeur du coefficient, 0.075).

Références

Helsel, D.R., **2012**. Statistics for Censored Environmental Data Using Minitab and R, 2nd ed. Wiley.

Helsel, D.R., Lee, L.R., **2006**. Analysis of environmental data with nondetects. Statistical methods for censored environmental data. In *ASA Workshop: Statistical methods for censored environmental data. Continuing education workshop at the joint statistical meetings American Statistical Association, Seattle, Washington*.

Lenth, R.V., **2009**. Response-Surface Methods in R, Using rsm. *Journal of Statistical Software*, October 2009, Volume 32, Issue 7.

RESULTATS DU PROGRAMME ORQUE-SUDOE

Types d'échantillons :

WO : Huitres sauvages – WM : Moules sauvages – CO : Huitres de culture

SRM, ERM, BCR : matrices de référence

Région concernée :

BA : Bassin d'Arcachon

LR : Pertuis Charentais

Ost : Ostranor (Espagne)

Urd : Urdabaï (Espagne)

La localisation géographique des stations est présentée ci-après.

Sites de prélèvement



RESULTATS HUITRES ET MOULES SAUVAGES OU CULTIVEES

Perfluoroalkyle carboxylates

	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTTrDA	PFTeDA
	C (ng/g dw)	C (ng/g dw)	C (ng/g dw)	C (ng/g dw)	C (ng/g dw)	C (ng/g dw)	C (ng/g dw)
BA CO 1	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
BA CO 2	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
BA CO 3	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
BA WO 1	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
BA WO 2	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
BA WO 3	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	0,17
BA WM 1	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	0,16
BA WM 2	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
BA WM 3	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
LR CO 1	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
LR CO 2	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
LR CO 3	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
LR WO 1	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
LR WO 2	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
LR WO 3	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
Ost CO 1	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
Ost CO 2	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	0,16
Ost CO 3	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
Urd WO 1	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
Urd WO 2	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
Urd WO 3	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld

Perfluoroalkyle sulfonates

	PFHxS	PFHpS	Br-PFOS	L-PFOS	PFDS
	C (ng/g dw)	C (ng/g dw)	C (ng/g dw)	C (ng/g dw)	C (ng/g dw)
BA CO 1	<ld	<ld	0,09	0,33	<ld
BA CO 2	<ld	<ld	0,06	0,28	<ld
BA CO 3	<ld	<ld	0,06	0,33	<ld
BA WO 1	<ld	<ld	0,07	0,38	<ld
BA WO 2	<ld	<ld	0,07	0,46	<ld
BA WO 3	<ld	<ld	0,08	0,35	<ld
BA WM 1	<ld	<ld	0,12	0,94	<ld
BA WM 2	<ld	<ld	0,13	1,04	<ld
BA WM 3	<ld	<ld	0,14	0,96	<ld
LR CO 1	0,46	<ld	0,64	1,70	<ld
LR CO 2	0,43	<ld	0,50	1,49	<ld
LR CO 3	0,50	<ld	0,62	1,68	<ld
LR WO 1	<ld	<ld	<ld	0,22	<ld
LR WO 2	<ld	<ld	0,04	0,27	<ld
LR WO 3	<ld	<ld	0,05	0,25	<ld
Ost CO 1	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
Ost CO 2	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
Ost CO 3	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
Urd WO 1	<ld	<ld	0,10	1,00	<ld
Urd WO 2	<ld	<ld	0,12	1,09	<ld
Urd WO 3	<ld	<ld	0,12	0,99	<ld

Autres composés poly- et perfluoroalkylés

	MeFOSAA	EtFOSAA	FOSA	MeFOSA	EtFOSA	6:2 FTSA
	C (ng/g dw)	C (ng/g dw)	C (ng/g dw)	C (ng/g dw)	C (ng/g dw)	C (ng/g dw)
BA CO 1	<ld	<ld	0,29	<ld	<ld	<ld
BA CO 2	<ld	<ld	0,30	<ld	<ld	<ld
BA CO 3	<ld	<ld	0,28	<ld	<ld	<ld
BA WO 1	<ld	<ld	0,27	<ld	<ld	<ld
BA WO 2	<ld	<ld	0,26	<ld	<ld	<ld
BA WO 3	<ld	<ld	0,29	<ld	<ld	<ld
BA WM 1	<ld	<ld	0,96	<ld	<ld	<ld
BA WM 2	<ld	<ld	0,87	<ld	<ld	<ld
BA WM 3	<ld	<ld	0,98	<ld	<ld	<ld
LR CO 1	<ld	<ld	0,11	<ld	<ld	<ld
LR CO 2	<ld	<ld	0,11	<ld	<ld	<ld
LR CO 3	<ld	<ld	0,11	<ld	<ld	<ld
LR WO 1	<ld	<ld	0,49	<ld	<ld	<ld
LR WO 2	<ld	<ld	0,49	<ld	<ld	<ld
LR WO 3	<ld	<ld	0,46	<ld	<ld	<ld
Ost CO 1	<ld	<ld	0,07	<ld	<ld	<ld
Ost CO 2	<ld	<ld	0,06	<ld	<ld	<ld
Ost CO 3	<ld	<ld	0,10	<ld	<ld	<ld
Urd WO 1	<ld	<ld	0,20	<ld	<ld	1,19
Urd WO 2	<ld	<ld	0,21	<ld	<ld	1,27
Urd WO 3	<ld	<ld	0,22	<ld	<ld	1,24

MATRICES DE REFERENCE

SRM 2977	Unité	Analyse 1	Analyse 2	Analyse 3	Moyenne	CV (%)	LOQ
PFOA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.257
PFNA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.203
PFDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.364
PFUnDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.381
PFDODA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.285
PFTTrDA	ng/g dw	0.65	< LQ	< LQ	0.65		0.415
PFTeDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.059
PFBS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.025
PFHxS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.012
PFHpS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.014
L-PFOS	ng/g dw	0.58	0.55	0.58	0.57	2.7	0.089
Br-PFOS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.195
PFDS	ng/g dw	0.14	0.14	0.17	0.15	9.8	0.099
MeFOSAA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.012
EtFOSAA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.073
FOSA	ng/g dw	1.47	1.83	1.70	1.67	10.9	0.127
MeFOSA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.103
EtFOSA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.327
6:2 FTSA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.216

SRM 2976	Unité	Analyse 1	Analyse 2	Analyse 3	Moyenne	CV (%)	LOQ
PFOA	ng/g dw	0.33	0.35	0.77	0.48	50.8	0.257
PFNA	ng/g dw	0.21	< LQ	< LQ	0.21		0.203
PFDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.364
PFUnDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.381
PFDODA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.285
PFTTrDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.415
PFTeDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.059
PFBS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.025
PFHxS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.012
PFHpS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.014
L-PFOS	ng/g dw	0.27	0.29	0.28	0.28	3.6	0.089
Br-PFOS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.195
PFDS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.099
MeFOSAA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.012
EtFOSAA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.073
FOSA	ng/g dw	0.96	0.97	0.83	0.92	8.5	0.127
MeFOSA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.103
EtFOSA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.327
6:2 FTSA	ng/g dw	0.33	0.28	< LQ	0.31	13.1	0.216

ERM CE 477	Unité	Analyse 1	Analyse 2	Analyse 3	Moyenne	CV (%)	LOQ
PFOA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.257
PFNA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.203
PFDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.364
PFUnDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.381
PFDODA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.285
PFTTrDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.415
PFTeDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.059
PFBS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.025
PFHxS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.012
PFHpS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.014
L-PFOS	ng/g dw	0.51	0.50	0.48	0.50	2.4	0.089
Br-PFOS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.195
PFDS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.099
MeFOSAA	ng/g dw	0.06	0.10	0.11	0.09	26.7	0.012
EtFOSAA	ng/g dw	0.17	0.12	0.14	0.15	17.8	0.073
FOSA	ng/g dw	9.65	9.04	9.89	9.53	4.6	0.127
MeFOSA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.103
EtFOSA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.327
6:2 FTSA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.216

ERM CE 298k	Unité	Analyse 1	Analyse 2	Analyse 3	Moyenne	CV (%)	LOQ
PFOA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.257
PFNA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.203
PFDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.364
PFUnDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.381
PFDODA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.285
PFTTrDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.415
PFTeDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.059
PFBS	ng/g dw	0.05	0.05	0.07	0.06	21.5	0.025
PFHxS	ng/g dw	0.06	0.06	0.05	0.06	17.6	0.012
PFHpS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.014
L-PFOS	ng/g dw	1.16	1.23	1.34	1.25	7.3	0.089
Br-PFOS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.195
PFDS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.099
MeFOSAA	ng/g dw	0.03	0.02	0.04	0.03	31.8	0.012
EtFOSAA	ng/g dw	0.08	< LQ	0.08	0.08	4.5	0.073
FOSA	ng/g dw	1.86	1.85	1.99	1.90	4.0	0.127
MeFOSA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.103
EtFOSA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.327
6:2 FTSA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.216

BCR 710	Unité	Analyse 1	Analyse 2	Analyse 3	Moyenne	CV (%)	LOQ
PFOA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.257
PFNA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.203
PFDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.364
PFUnDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.381
PFDoDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.285
PFTTrDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.415
PFTeDA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.059
PFBS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.025
PFHxS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.012
PFHpS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.014
L-PFOS	ng/g dw	0.30	0.22	0.20	0.24	22.8	0.089
Br-PFOS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.195
PFDS	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.099
MeFOSAA	ng/g dw	< LQ	< LQ	0.10	0.10		0.012
EtFOSAA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.073
FOSA	ng/g dw	2.61	2.67	2.90	2.72	5.6	0.127
MeFOSA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.103
EtFOSA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.327
6:2 FTSA	ng/g dw	< LQ	< LQ	< LQ			0.216

ANNEXES DU CHAPITRE III.2

Détermination des PFAS dans le plasma d'oiseaux marins par extraction sur phase solide en ligne couplée à la chromatographie liquide et à la spectrométrie de masse en tandem

Electronic Supporting Information

Determination of poly- and perfluoroalkyl substances in seabird plasma: a fast and rugged method based on small sample volume using on-line solid phase extraction coupled to high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry

Gabriel Munoz¹, Pierre Labadie², Emmanuel Geneste¹, Patrick Pardon¹, Sabrina Tartu³, Olivier Chastel³ and Hélène Budzinski^{2,*}

¹: University of Bordeaux, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, Talence F-33400, France.

²: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, Talence F-33400, France.

³: Centre d'Etudes Biologiques de Chizé (CEBC), UMR 7372-ULR CNRS, Villiers-en-Bois F-79360, France.

*Contact: helene.budzinski@u-bordeaux.fr

Table of Contents

Sampling area	p 486
Details on target analytes	p 487
Mass spectrometry settings	p 488
Levels in procedural blanks	p 490
Complementary Results	p 491
<i>Influence of organic solvent percentage</i>	p 491
<i>Choice of protein precipitation solvent</i>	p 492
<i>Assessment of matrix effects</i>	p 493
<i>Application to environmental analysis</i>	p 494

1. Sampling area

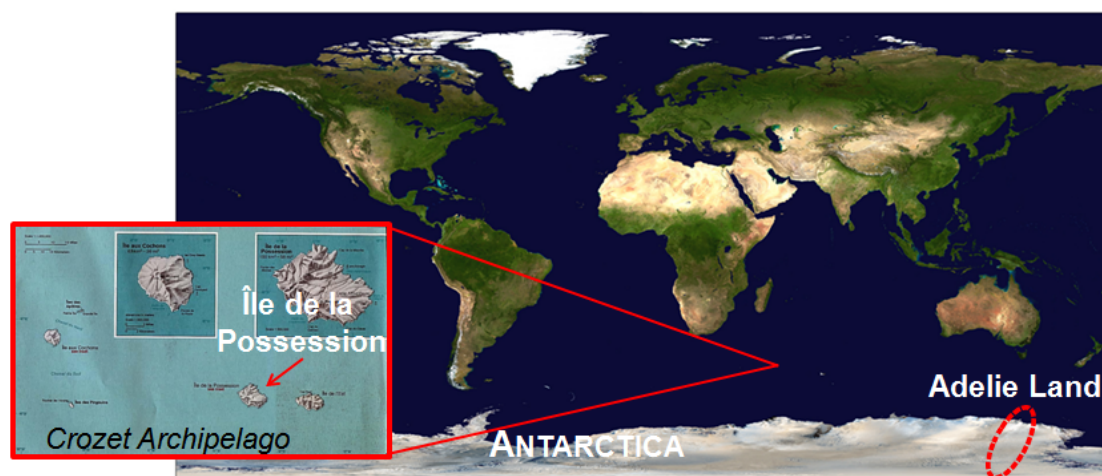


Fig.S1. World map showing the general setting of the sampling locations (Crozet Archipelago and Adelie Land).

2. Details on target analytes

Table S1. List of PFAS molecules targeted in this study.

<i>Acronym</i>	Compound name	Molecular formula	CAS
PFPeA	perfluoro-n-pentanoic acid	C ₄ F ₉ COOH	2706-90-3
PFHxA	perfluoro-n-hexanoic acid	C ₅ F ₁₁ COOH	307-24-4
PFHpA	perfluoro-n-heptanoic acid	C ₆ F ₁₃ COOH	375-85-9
PFOA	perfluoro-n-octanoic acid	C ₇ F ₁₅ COOH	335-67-1
PFNA	perfluoro-n-nonanoic acid	C ₈ F ₁₇ COOH	375-95-1
PFDA	perfluoro-n-decanoic acid	C ₉ F ₁₉ COOH	335-76-2
PFUnA	perfluoro-n-undecanoic acid	C ₁₀ F ₂₁ COOH	2058-94-8
PFDoA	perfluoro-n-dodecanoic acid	C ₁₁ F ₂₃ COOH	307-55-1
PFTTrDA	perfluoro-n-tridecanoic acid	C ₁₂ F ₂₅ COOH	72629-94-8
PFTeDA	perfluoro-n-tetradecanoic acid	C ₁₃ F ₂₇ COOH	376-06-7
PFBS	perfluoro-1-butanesulfonic acid	C ₄ F ₉ SO ₃ H	375-73-5
PFHxS	perfluoro-1-hexanesulfonic acid	C ₆ F ₁₃ SO ₃ H	355-46-4
PFHpS	perfluoro-1-heptanesulfonic acid	C ₇ F ₁₅ SO ₃ H	375-92-8
Br-PFOS	(cluster of branched PFOS isomers)	-	-
L-PFOS	n-perfluoro-1-octanesulfonic acid	C ₈ F ₁₇ SO ₃ H	1763-23-1
PFDS	perfluoro-1-decanesulfonic acid	C ₁₀ F ₂₁ SO ₃ H	355-77-3
MeFOSAA	2-(N-methylperfluorooctane sulfonamido) acetic acid	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(CH ₃)CH ₂ COOH	NA
EtFOSAA	2-(N-ethylperfluorooctane sulfonamido) acetic acid	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(C ₂ H ₅)CH ₂ COOH	NA
FOSA	perfluorooctane sulfonamide	C ₈ F ₁₇ SO ₂ NH ₂	754-91-6
MeFOSA	N-methyl perfluorooctane sulfonamide	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(CH ₃)H	31506-32-8
EtFOSA	N-ethyl perfluorooctane sulfonamide	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(C ₂ H ₅)H	4151-50-2
4:2 FTSA	1H,1H,2H,2H-perfluorohexane sulfonate	C ₄ F ₉ CH ₂ CH ₂ SO ₃ H	414911-30-1
6:2 FTSA	1H,1H,2H,2H-perfluorooctane sulfonate	C ₆ F ₁₃ CH ₂ CH ₂ SO ₃ H	425670-75-3
8:2 FTSA	1H,1H,2H,2H-perfluorooctane sulfonate	C ₈ F ₁₇ CH ₂ CH ₂ SO ₃ H	481071-78-7
6:2 diPAP	Bis-[1H,1H,2H,2H-perfluorooctyl]phosphate	P(OCH ₂ CH ₂ C ₈ F ₁₇) ₂ O ₂	57677-95-9
8:2 diPAP	Bis-[1H,1H,2H,2H-perfluorodecyl]phosphate	P(OCH ₂ CH ₂ C ₁₀ F ₂₁) ₂ O ₂	678-41-1
diSAmPAP	Bis-[2-(N-ethylperfluorooctane-1-sulfonamido)ethyl] phosphate	P(OCH ₂ CH ₂ N(C ₂ H ₅)SO ₂ C ₈ F ₁₇) ₂ O ₂	NA

3. Mass spectrometry settings

PFASs were analyzed with an Agilent 6490 triple quadrupole mass spectrometer from Agilent Technologies (Massy, France) operated in dynamic multiple reaction monitoring (DMRM) mode. DMRM acquisition windows were centered at the expected elution time of the analytes and set at 1.25 min. The electrospray ionization source was operated in negative mode. Nebulizing gas temperature was set at 320°C, with a 12 L.min⁻¹ flow rate and a nebulization pressure of 60 psi. Sheath gas temperature and flow rate were set at 350°C and 12 L.min⁻¹, respectively. No nozzle skimmer voltage was applied, chamber acceleration voltage was fixed at 7V and fragmentor voltage at 380V. Internal standard MRM transitions are shown in Table S2. Analyte mass spectrometry acquisition parameters are available in Table S3.

Table S2. Internal standard names and corresponding MRM transitions.

IS compound	IS acronym	Quantitation transition (m/z)
[1,2- ¹³ C ₂] PFHxA	¹³ C ₂ -PFHxA	314.9 → 269.9
[1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOA	¹³ C ₄ -PFOA	416.9 → 371.9
[1,2- ¹³ C ₂] PFDA	¹³ C ₂ -PFDA	514.9 → 469.9
[1,2- ¹³ C ₂] PFUnA	¹³ C ₂ -PFUnA	565.0 → 520.0
[1,2- ¹³ C ₂] PFDoA	¹³ C ₂ -PFDoA	615.0 → 570.0
[1,2- ¹³ C ₂] PFTeDA	¹³ C ₂ -PFTeDA	715.0 → 670.0
Sodium [¹⁸ O ₂] ¹⁶ O ⁻ PFHxS	¹⁸ O ₂ -PFHxS	402 → 79.9
Sodium [1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOS	¹³ C ₄ -PFOS	502.9 → 79.9
D ₃ -N-MeFOSAA	D ₃ -N-MeFOSAA	573.0 → 418.9
[¹³ C ₈] FOSA	¹³ C ₈ -FOSA	505.9 → 77.9
D ₃ -N-MeFOSA	D ₃ -N-MeFOSA	514.9 → 168.9
D ₅ -N-EtFOSA	D ₅ -N-EtFOSA	531.0 → 168.9
Sodium [1,2- ¹³ C ₂] 6:2 FTSA	¹³ C ₂ -6:2 FTSA	429.0 → 409.0
Sodium [Bis-(1,2)- ¹³ C ₂] 6:2 diPAP	¹³ C ₄ -6:2 diPAP	793.0 → 445.0

Table S3. Mass spectrometry acquisition parameters. Collision energy corresponds to analyte quantitation transitions.

Analyte	Collision Energy (V)	Analyte quantitation (Q) transition (m/z)	Analyte confirmation (C) transition (m/z)	Q/C ratio	Corresponding internal standard
PFPeA	2	263.0 → 218.9	-	-	¹³ C ₂ -PFHxA
PFHxA	2	313.0 → 268.9	313.0 → 118.9	6	¹³ C ₂ -PFHxA
PFHpA	2	363.0 → 318.9	363.0 → 168.9	28	¹³ C ₄ -PFOA
PFOA	4	413.0 → 368.9	413.0 → 168.9	30	¹³ C ₄ -PFOA
PFNA	4	463.0 → 418.9	463.0 → 218.9	18	¹³ C ₄ -PFOA
PFDA	4	513.0 → 468.9	513.0 → 268.9	9	¹³ C ₂ -PFDA
PFUnA	4	563.0 → 518.9	563.0 → 268.9	9	¹³ C ₂ -PFUnA
PFDaA	4	613.0 → 568.9	613.0 → 168.9	12	¹³ C ₂ -PFDaA
PFTTrDA	4	663.0 → 618.9	663.0 → 369.0	7	¹³ C ₂ -PFDaA
PFTeDA	8	712.9 → 668.8	712.9 → 419.0	5	¹³ C ₂ -PFTeDA
PFBS	28	298.9 → 79.9	298.9 → 98.9	29	¹⁸ O ₂ -PFHxS
PFHxS	52	398.9 → 79.9	398.9 → 98.9	30	¹⁸ O ₂ -PFHxS
PFHpS	56	448.9 → 79.9	448.9 → 98.9	30	¹³ C ₄ -PFOS
L-PFOS	60	498.9 → 79.9	498.9 → 98.9	33	¹³ C ₄ -PFOS
PFDS	76	598.9 → 79.9	598.9 → 98.9	31	¹³ C ₄ -PFOS
MeFOSAA	16	570.0 → 511.8	570.0 → 418.8	44	D ₃ -N-MeFOSAA
EtFOSAA	16	584.0 → 525.8	584.0 → 418.8	202	D ₃ -N-MeFOSAA
FOSA	36	497.9 → 77.9	-	-	¹³ C ₈ -FOSA
MeFOSA	28	512.0 → 168.9	512.0 → 218.9	79	D ₃ -N-MeFOSA
EtFOSA	28	526.0 → 168.9	526.0 → 218.9	76	D ₅ -N-EtFOSA
4:2 FTSA	20	327.0 → 306.9	327.0 → 80.5	25	¹³ C ₂ -6:2 FTSA
6:2 FTSA	20	427.0 → 406.8	427.0 → 79.9	31	¹³ C ₂ -6:2 FTSA
8:2 FTSA	28	527.0 → 506.9	527.0 → 80.9	29	¹³ C ₂ -6:2 FTSA
6:2 diPAP	20	789.0 → 443.0	789.0 → 96.9	92	¹³ C ₄ -6:2 diPAP
8:2 diPAP	28	989.0 → 542.8	989.0 → 96.9	214	¹³ C ₄ -6:2 diPAP
diSAmPAP	52	1203.0 → 525.8	1203.0 → 649.9	4	¹³ C ₄ -6:2 diPAP

4. Levels in procedural blanks

Table S4. Mean levels (pg) in procedural blanks (n=12). When applicable, standard deviation (pg) is specified in brackets. When analytes were not found in procedural blanks, levels were reported as “ND” (not detected).

Analyte	Mean level (pg) in procedural blanks	Frequency of detection
PFPeA	0.9 (1.0)	6/12
PFHxA	0.4 (0.8)	3/12
PFHpA	1.5 (1.5)	7/12
PFOA	3.4 (0.6)	12/12
PFNA	ND	0/12
PFDA	0.1 (0.3)	2/12
PFUnA	1.1 (0.6)	10/12
PFDaA	0.1 (0.2)	2/12
PFTTrDA	0.1 (0.2)	3/12
PFTeDA	ND	0/12
PFBS	ND	0/12
PFHxS	ND	0/12
PFHpS	ND	0/12
L-PFOS	ND	0/12
PFDS	ND	0/12
MeFOSAA	ND	0/12
EtFOSAA	ND	0/12
FOSA	0.2 (0.1)	12/12
MeFOSA	0.8 (1.2)	6/12
EtFOSA	0.2 (0.1)	4/12
4:2 FTSA	ND	0/12
6:2 FTSA	ND	0/12
8:2 FTSA	ND	0/12
6:2 diPAP	3.8 (1.3)	12/12
8:2 diPAP	ND	0/12
diSAmPAP	ND	0/12

5. Complementary results

Influence of organic solvent percentage

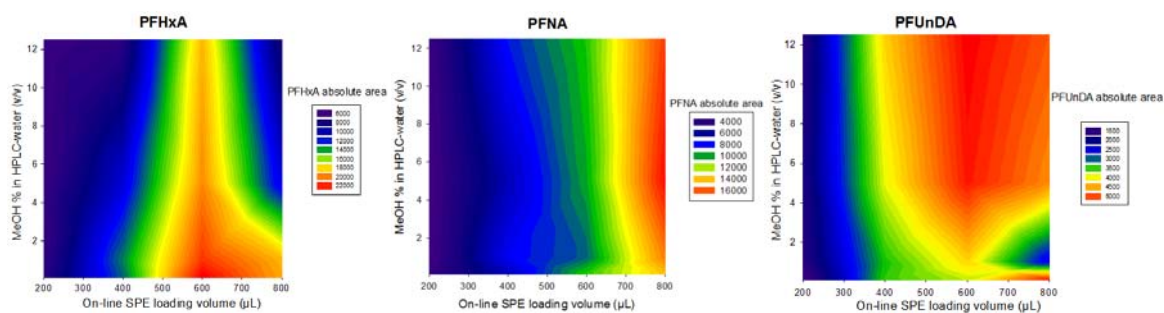


Fig.S2. Simultaneous investigation of the influence of on-line SPE loading volume (μL) and organic solvent percentage (% MeOH in HPLC-Water v/v) on analyte absolute area, illustrated for carboxylates of various perfluoroalkyl chain lengths (number of perfluoroalkyl carbon atoms, n_c): PFHxA ($n_c = 5$), PFNA ($n_c = 8$), and PFUnDA ($n_c = 10$).

Choice of protein precipitation solvent

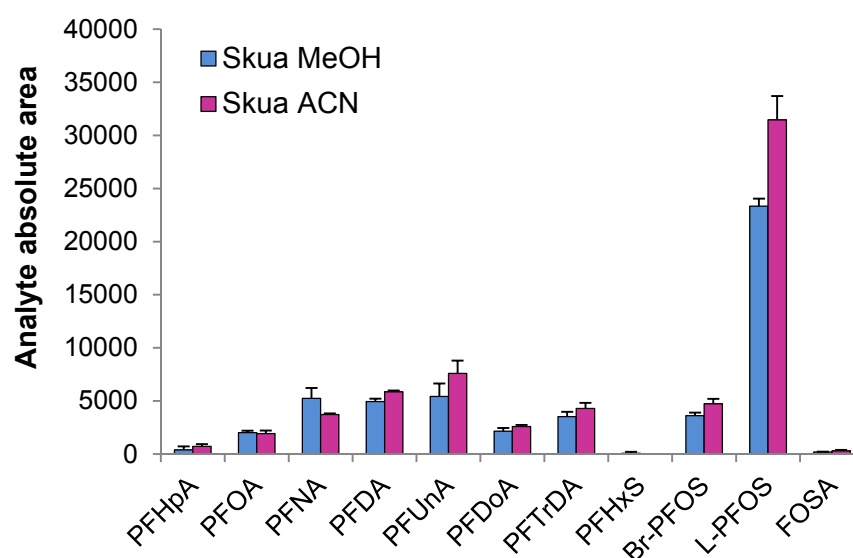


Fig.S3. Native PFAS absolute areas in pooled skua plasma samples, with either MeOH or ACN protein precipitation. Error bars indicate standard deviation.

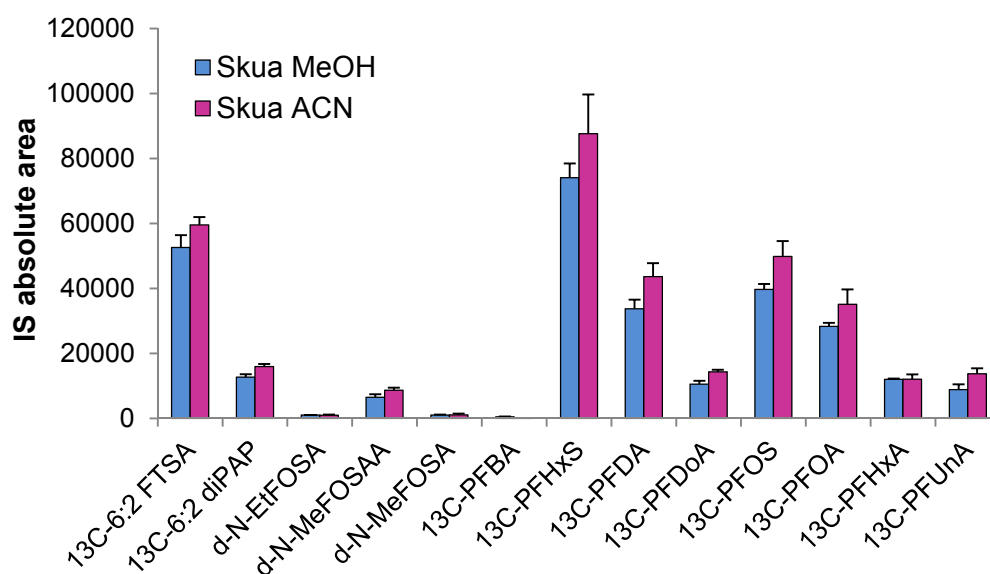


Fig.S4. IS (added at the end of the preparation procedure) absolute areas in pooled skua plasma samples, with either MeOH or ACN protein precipitation. Error bars indicate standard deviation.

Assessment of matrix effects

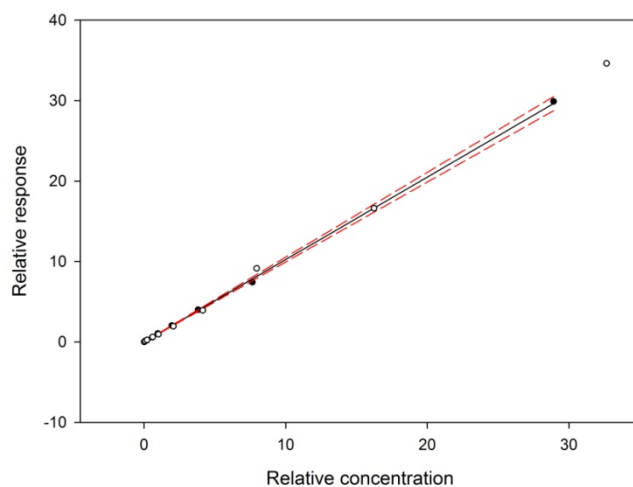


Fig.S5. Illustration of the calibration curve (1/x weighted linear regression) obtained for L-PFOS in the solvent-based approach (solid black line, the red dashed line corresponding to the 95 % confidence interval). White dots correspond to the calibration points for the matrix-based approach (standard addition to chicken plasma).

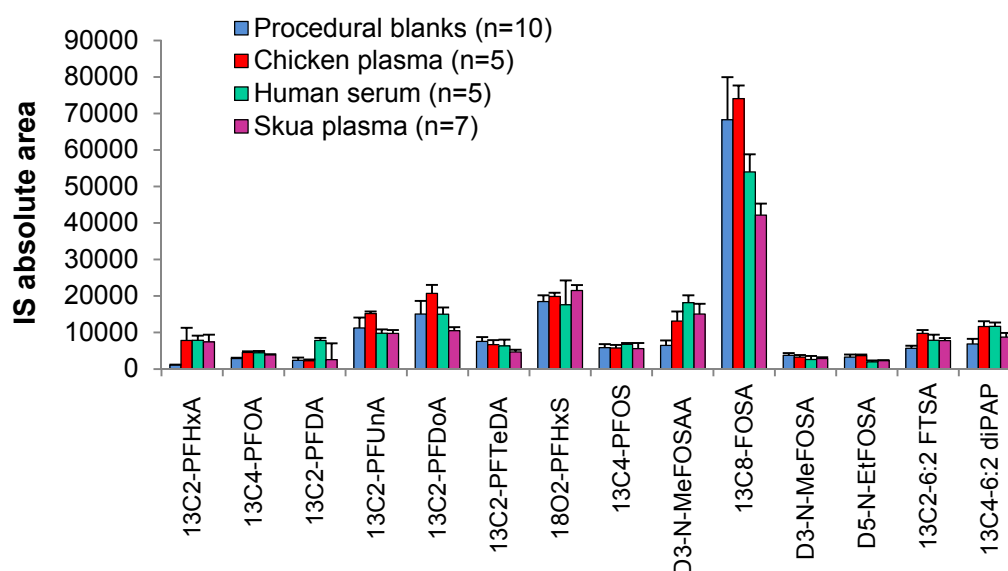


Fig.S6. “Raw” matrix effect, evaluated through the observation of internal standard absolute area in procedural blanks (n=10), chicken plasma samples (n=5), human serum (NIST SRM 1957) samples (n=5), and South Polar skua plasma samples (n=7) prepared and analyzed by on-line SPE coupled to HPLC-MS/MS on the same work day. Error bars indicate standard deviation.

Application to environmental analysis (1/2)

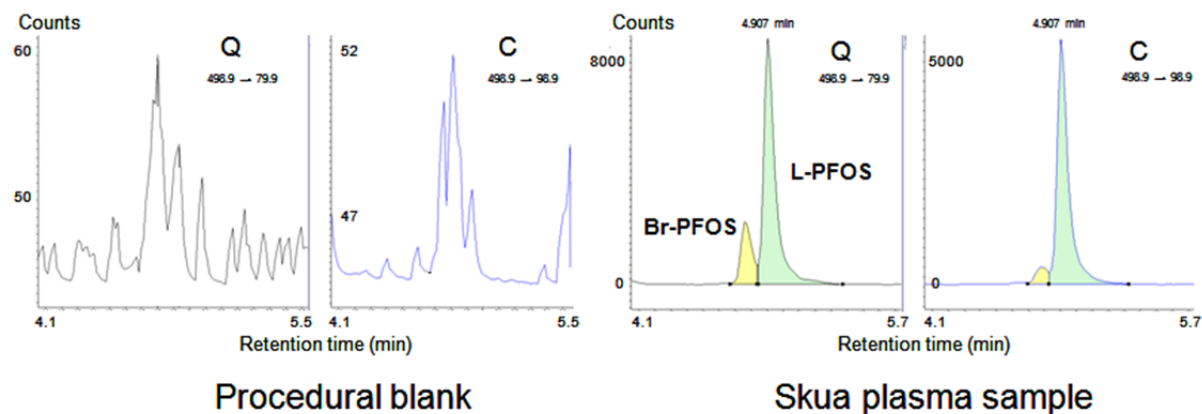


Fig.S7. Illustration of the on-line SPE HPLC-MS/MS chromatograms obtained for PFOS in a procedural blank and a South Polar skua plasma sample, showing the transitions used for quantitation (Q) and confirmation (C).

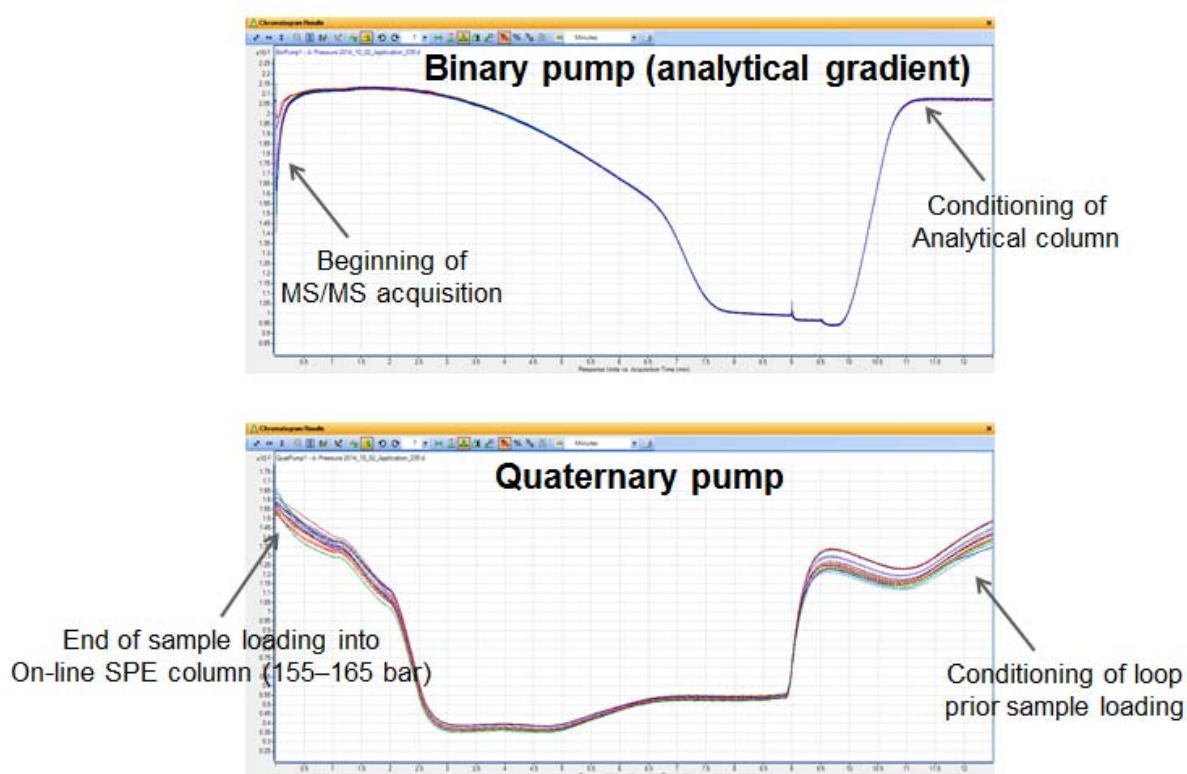


Fig.S8. Overlaid instrument pressure curves (analytical binary pump and on-line SPE quaternary pump) during the analyses of seabird plasma samples (n=21).

Application to environmental analysis (2/2)

Table S5. Concentrations (ng.g⁻¹ plasma) of detected polyfluoroalkyl substances in snow petrel, king penguin and South polar skua plasma samples. Concentrations were all blank-corrected.

	PFHpA	PFNA	PFDA	PFUnA	PFDoA	PFTTrDA	PFTeDA	PFBS	PFHxS	PFHpS	Br-PFOS	L-PFOS	EtFOSA	ΣPFASs
Petrel_1	0.15	<LOD	0.13	0.65	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.18	0.71	<LOD	1.8
Petrel_2	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.20	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.068	0.16	<LOD	0.42
Petrel_3	0.17	0.081	0.12	0.70	0.41	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.20	0.84	<LOD	2.5
Petrel_4	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.13	0.24	<LOD	0.37
Petrel_5	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.25	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.32	0.56	<LOD	1.1
Petrel_6	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.23	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.055	0.27	<LOD	0.55
Petrel_7	<LOD	<LOD	0.11	0.44	0.45	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.16	0.64	<LOD	1.8
Penguin_1	<LOD	<LOD	<LOD	0.076	0.033	0.042	<LOD	0.022	0.018	<LOD	0.093	0.19	0.06	0.53
Penguin_2	<LOD	<LOD	<LOD	0.13	0.04	<LOD	<LOD	0.012	<LOD	<LOD	0.066	0.13	<LOD	0.37
Penguin_3	<LOD	<LOD	<LOD	0.14	<LOD	0.06	<LOD	0.022	<LOD	<LOD	0.087	0.17	0.06	0.54
Penguin_4	<LOD	<LOD	<LOD	0.17	0.07	<LOD	<LOD	0.020	<LOD	<LOD	0.040	0.16	0.04	0.49
Penguin_5	<LOD	<LOD	<LOD	0.16	<LOD	<LOD	<LOD	0.015	<LOD	<LOD	0.069	0.17	<LOD	0.41
Penguin_6	<LOD	<LOD	<LOD	0.16	0.05	<LOD	<LOD	0.015	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.04	0.26
Penguin_7	<LOD	<LOD	<LOD	0.087	<LOD	<LOD	0.01	0.013	<LOD	<LOD	0.077	0.15	0.05	0.38
Skua_1	<LOD	0.20	0.71	3.7	0.82	1.4	0.15	<LOD	0.015	0.053	2.1	8.5	<LOD	18
Skua_2	<LOD	0.19	<LOD	4.0	0.85	1.5	0.23	0.010	0.009	<LOD	2.4	9.8	<LOD	19
Skua_3	<LOD	0.11	0.37	2.0	0.56	1.3	0.25	<LOD	0.010	<LOD	0.83	4.3	<LOD	9.7
Skua_4	<LOD	0.25	<LOD	3.5	1.0	1.9	0.24	0.006	0.017	0.050	2.6	7.7	<LOD	17
Skua_5	<LOD	<LOD	<LOD	0.96	0.26	0.53	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.47	1.9	<LOD	4.1
Skua_6	<LOD	<LOD	<LOD	0.84	0.19	0.45	0.08	<LOD	<LOD	<LOD	0.18	1.3	<LOD	3.1
Skua_7	<LOD	<LOD	<LOD	1.1	0.27	0.53	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.29	2.3	<LOD	4.5

ANNEXES DU CHAPITRE III.3

Optimisation et validation d'une méthode d'analyse des PFAS dans les matrices aqueuses par désorption thermique à diode laser (LDTD) couplée à la spectrométrie de masse haute résolution

Electronic Supporting Information

Quantitative analysis of poly- and perfluoroalkyl compounds in water matrices using high resolution mass spectrometry: Optimization for a laser diode thermal desorption method

Gabriel Munoz^{a,b}, Sung Vo Duy^b, H       Budzinski^c, Pierre Labadie^c, Jinxia Liu^d and S       Sauv  ^{b,*}

^a: Université de Bordeaux, EPOC, UMR 5805, LPTC, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France.

^b: Department of Chemistry, Université de Montréal, C.P. 6128, Succursale Centre-Ville, Montréal, QC, Canada, H3C 3J7.

^c: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France.

^d: McGill University, Department of Civil Engineering, 817 Sherbrooke Street West, Montreal, Quebec H3A 0C3.

*Corresponding author. Contact: sebastien.sauve@umontreal.ca

Table of Contents

Surface water sampling sites.....	p 499
Details on analytes and internal standards.....	p 500
General optimization scheme.....	p 503
Preliminary results.....	p 504
LDTD optimization.....	p 505
Q-Exactive Optimization.....	p 509
SPE modifications.....	p 512
Influence of filter nature.....	p 513

Surface water sampling sites

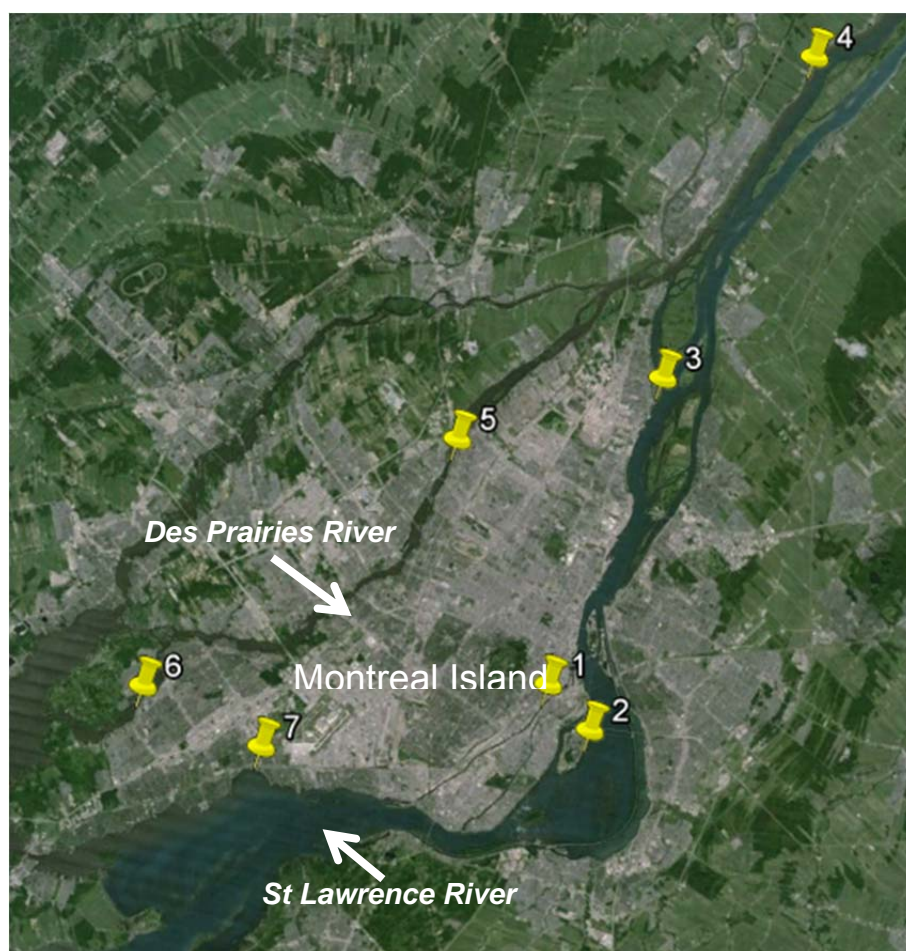


Figure S-1. Map showing surface water sampling sites ($n=7$) around the Montreal island. The sampling scheme included points from the St Lawrence River (2: île des Sœurs; 3: Pointe-Aux-Trembles; 4: St-Sulpice; 7: Lakeshore), from the Des Prairies River (5: Leonard; 6: Genevieve), and from an artificial canal (1: Lachine).

Details on analytes and internal standards (1)

Table S-1. Analyte structure and corresponding mass-labeled internal standard

<i>Acronym</i>	Compound name	Structure	Number of perfluorinated carbons	Corresponding Internal standard
PFBA	perfluoro-n-butanoic acid	C ₃ F ₇ COOH	3	M-PFBA
PFPeA	perfluoro-n-pentanoic acid	C ₄ F ₉ COOH	4	M-PFBA
PFHxA	perfluoro-n-hexanoic acid	C ₅ F ₁₁ COOH	5	M-PFHxA
PFHpA	perfluoro-n-heptanoic acid	C ₆ F ₁₃ COOH	6	M-PFOA
PFOA	perfluoro-n-octanoic acid	C ₇ F ₁₅ COOH	7	M-PFOA
PFNA	perfluoro-n-nonanoic acid	C ₈ F ₁₇ COOH	8	M-PFNA
PFDA	perfluoro-n-decanoic acid	C ₉ F ₁₉ COOH	9	M-PFDA
PFUnA	perfluoro-n-undecanoic acid	C ₁₀ F ₂₁ COOH	10	M-PFUnA
PFDoA	perfluoro-n-dodecanoic acid	C ₁₁ F ₂₃ COOH	11	M-PFDoA
PFTTrDA	perfluoro-n-tridecanoic acid	C ₁₂ F ₂₅ COOH	12	M-PFDoA
PFTeDA	perfluoro-n-tetradecanoic acid	C ₁₃ F ₂₇ COOH	13	M-PFDoA
PFHxDA	perfluoro-n-hexadecanoic acid	C ₁₅ F ₃₁ COOH	15	M-PFDoA
PFODA	perfluoro-n-octadecanoic acid	C ₁₇ F ₃₅ COOH	17	M-PFDoA
PFBS	perfluoro-1-butanesulfonic acid	C ₄ F ₉ SO ₃ H	4	M-PFHxS
PFHxS	perfluoro-1-hexanesulfonic acid	C ₆ F ₁₃ SO ₃ H	6	M-PFHxS
PFOS	n-perfluoro-1-octanesulfonic acid	C ₈ F ₁₇ SO ₃ H	8	M-PFOS
PFDS	perfluoro-1-decanesulfonic acid	C ₁₀ F ₂₁ SO ₃ H	10	M-PFOS
FOSA	perfluorooctane sulfonamide	C ₈ F ₁₇ SO ₂ NH ₂	8	-
6:2 FTS	1H,1H,2H,2H-perfluorooctane sulfonate	C ₆ F ₁₃ CH ₂ CH ₂ SO ₃ H	6	M-PFOS

Details on analytes and internal standards (2)

Table S-2. Calculated exact mass and average measured mass of native PFASs

Native compound	Calculated Exact Mass	Average Measured Mass	Mean $ \Delta m \pm SD$ (ppm, n=5)
PFBA	212.97865	212.97917	2.4 \pm 0.8
PFPeA	262.97546	262.97658	4.2 \pm 0.3
PFHxA	312.97226	312.97354	4.1 \pm 0.7
PFHpA	362.96907	362.97065	4.4 \pm 1.0
PFOA	412.96588	412.96735	3.6 \pm 0.5
PFNA	462.96268	462.964416	3.7 \pm 0.5
PFDA	512.95949	512.96105	3.0 \pm 0.7
PFUnA	562.95629	562.95820	3.4 \pm 1.4
PFDoA	612.95310	612.95507	3.2 \pm 0.4
PFTTrDA	662.94991	662.95179	2.8 \pm 1.2
PFTeDA	712.94671	712.94891	3.1 \pm 0.7
PFHxDA	812.94032	812.94299	3.3 \pm 0.3
PFODA	912.93394	912.93659	2.9 \pm 1.3
PFBS	298.94244	298.94363	4.0 \pm 0.9
PFHxS	398.93606	398.93762	3.9 \pm 0.8
PFOS	498.92967	498.93161	3.9 \pm 0.4
PFDS	598.92328	598.92549	3.7 \pm 0.6
FOSA	497.94565	497.94713	3.0 \pm 1.0
6:2 FTS	426.96736	426.96904	3.9 \pm 0.6

Table S-3. Calculated exact mass and average measured mass of mass-labeled PFASs

Mass-labeled compound	IS acronym	Calculated exact mass	Average Measured Mass	Mean $ \Delta m \pm SD$ (ppm, n=5)
[1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFBA	M-PFBA	216.99205	216.99279	3.9 \pm 1.6
[1,2- ¹³ C ₂] PFHxA	M-PFHxA	314.97896	314.98022	4.0 \pm 0.8
[1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOA	M-PFOA	416.97928	416.98081	3.7 \pm 1.6
[1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFNA	M-PFNA	467.97943	467.98105	3.5 \pm 2.4
[1,2- ¹³ C ₂] PFDA	M-PFDA	514.96619	514.96776	3.1 \pm 2.2
[1,2- ¹³ C ₂] PFUnA	M-PFUnA	564.96299	564.96460	2.9 \pm 1.4
[1,2- ¹³ C ₂] PFDoA	M-PFDoA	614.95980	614.96118	2.3 \pm 0.8
Sodium [¹⁸ O] ₂ ¹⁶ O ⁻ PFHxS	M-PFHxS	402.94455	402.94587	3.3 \pm 1.2
Sodium [1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOS	M-PFOS	502.94307	502.94474	3.3 \pm 1.7

Details on analytes and internal standards (3)

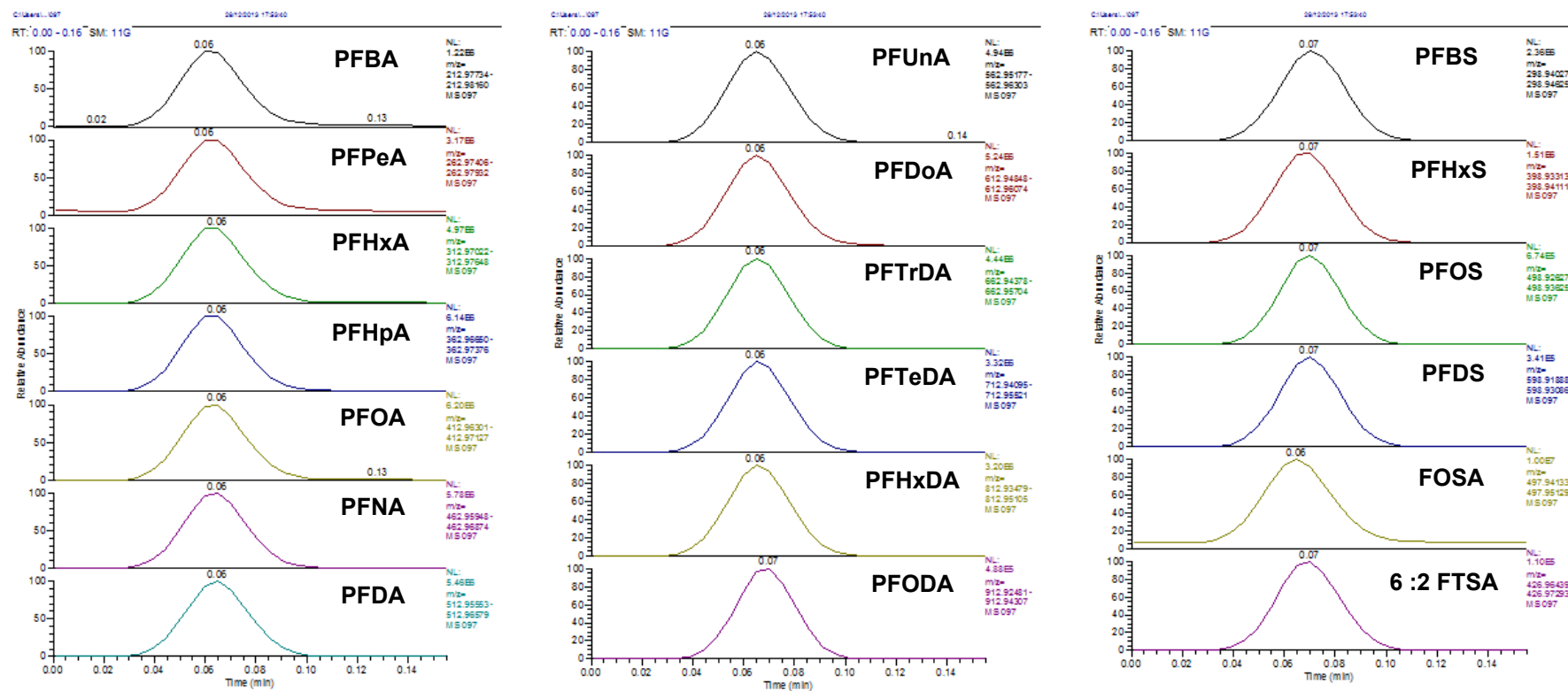


Figure S-2. Example of the LDTD/APCI-Orbitrap-MS output of the 19 native PFASs (20 ppb in EtOAc) under optimized conditions.

General Optimization Scheme

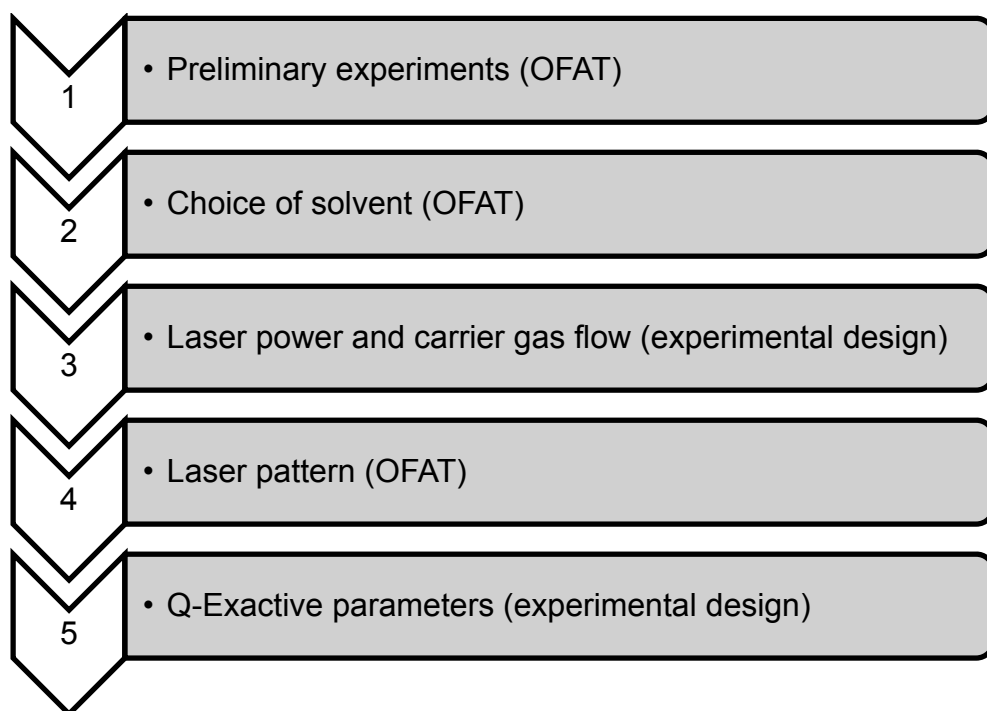


Figure S-3. General scheme for the optimization of LDTD and Orbitrap parameters.

Preliminary results

Preliminary tests were conducted in prefiltered (GFF 0.3µm) wastewater containing a mixture of four carboxylates (PFOA, PFDA, PFUnA and PFDoA) and one sulfonate (PFOS) at 200 µg L⁻¹. Pattern 1 was used for the laser ramp, laser power was set at 65%, and carrier gas flow at 2 L min⁻¹. Analyses were performed in a Thermo TSQ Quantum Finnigan triple quadrupole mass spectrometer operated in selected reaction monitoring (SRM).

Influence of pH

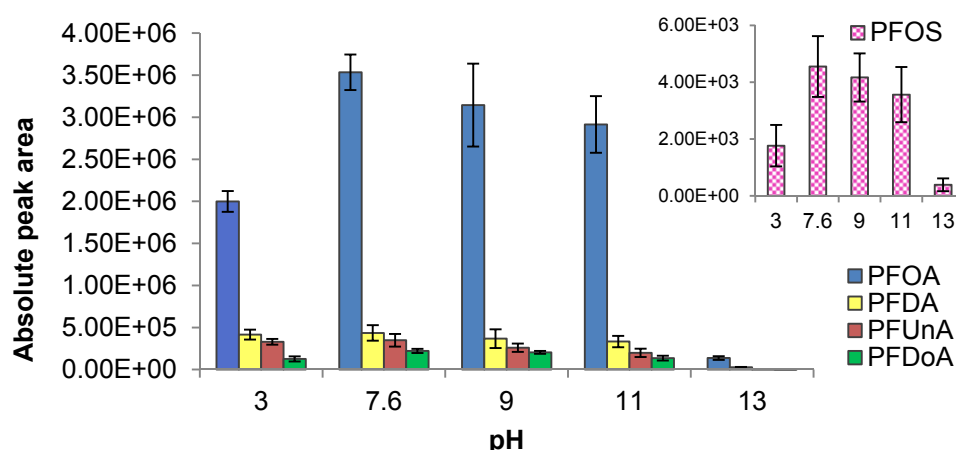


Figure S-4. Influence of pH of the wastewater filtrate on analyte absolute peak area (7 µL of filtered wastewater spiked at 200 µg L⁻¹ were deposited directly onto the LazWell plates).

Influence of NH₄OH percentage in wastewater

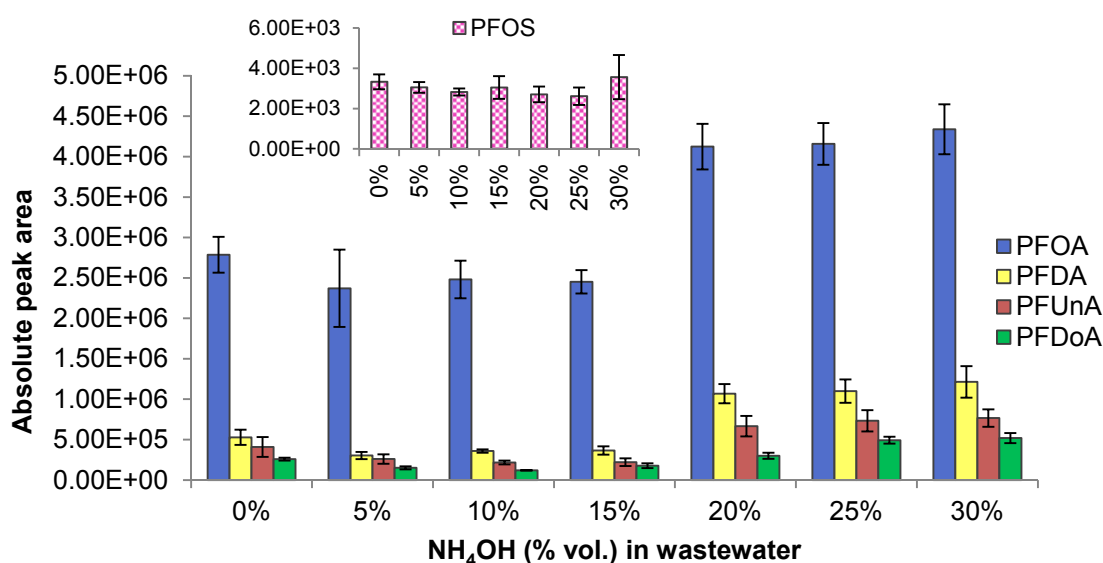


Figure S-5. Influence of NH₄OH percentage in wastewater on analyte absolute peak area (7 µL of filtered wastewater spiked at 200 µg L⁻¹ were deposited directly onto the LazWell plates).

LDTD Optimization (1)

Influence of deposition solvent nature

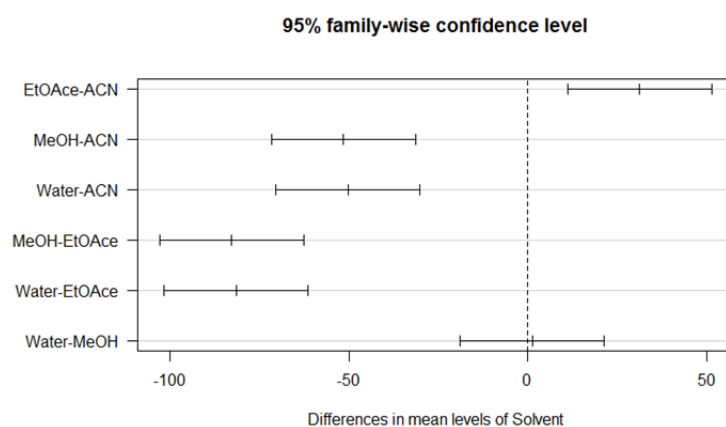


Figure S-6. Tukey's Honestly Significant Difference plot comparing 4 different deposition solvents. For each compound, peak area was normalized (in %) to the maximum value observed.

LDTD Optimization (2)

Influence of NH_4OH percentage in acetonitrile (1)

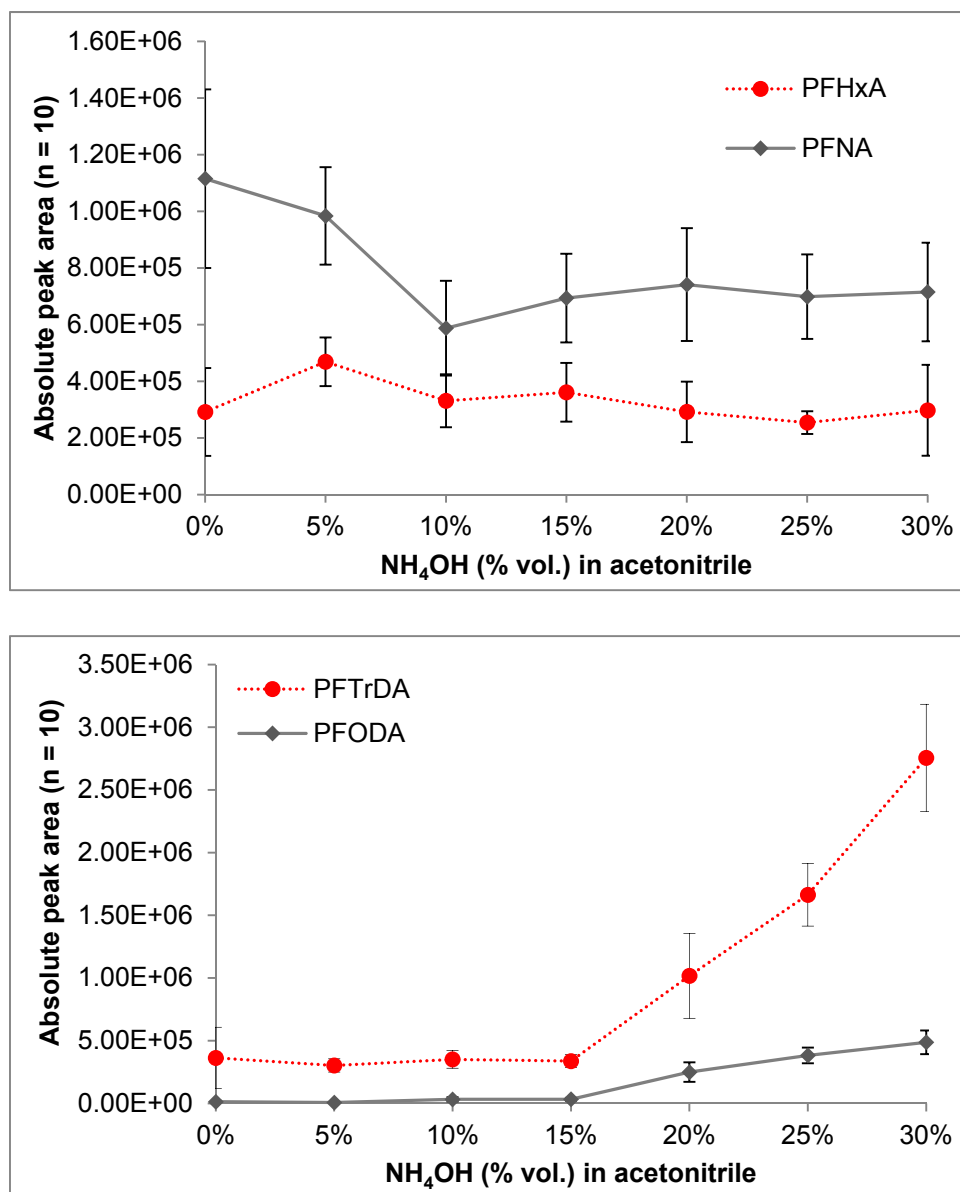


Figure S-7. Influence of NH_4OH percentage in acetonitrile on analyte absolute peak area illustrated for selected perfluoroalkyl carboxylates.

LDTD Optimization (3)

Influence of NH_4OH in acetonitrile (2)

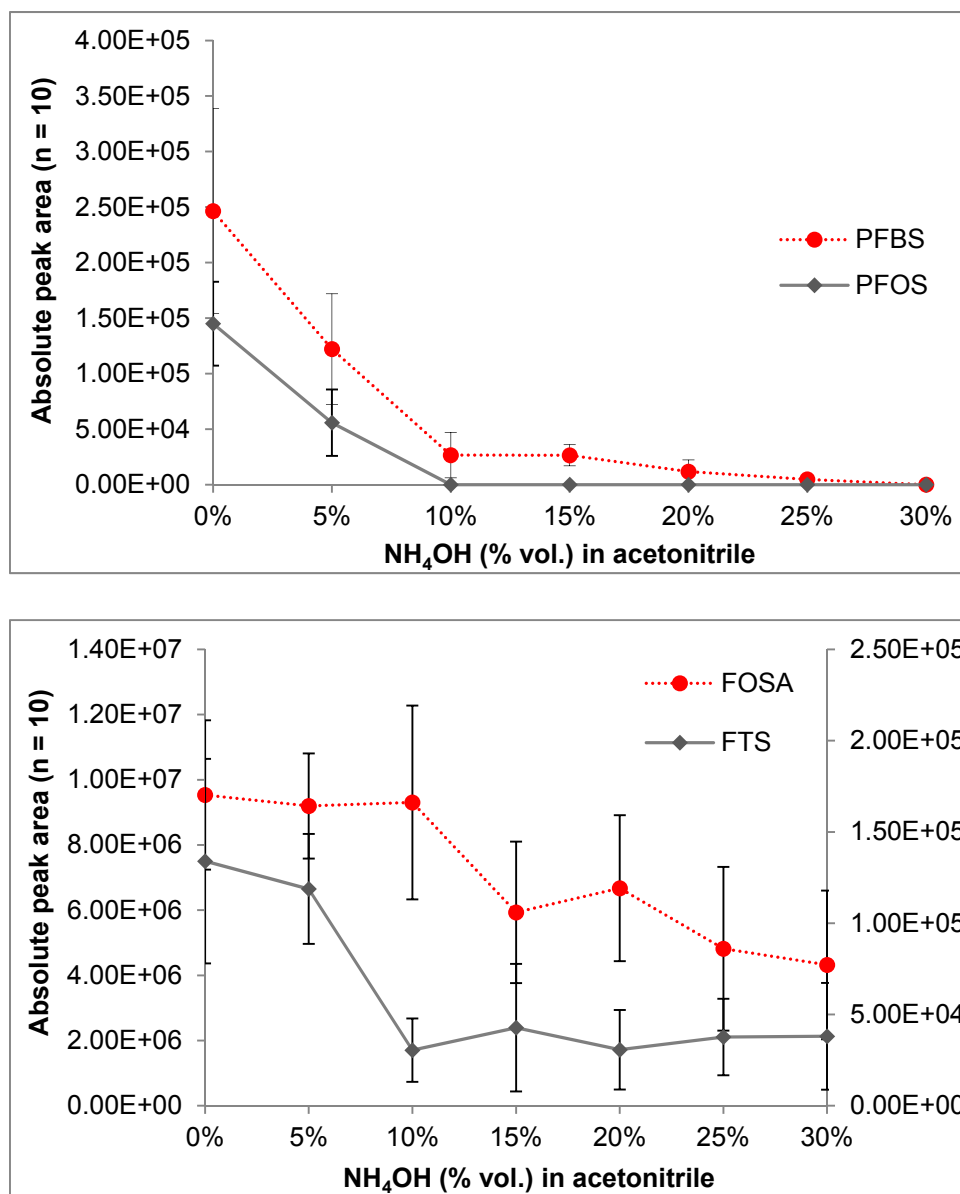


Figure S-8. Influence of NH_4OH percentage in acetonitrile on analyte absolute area, illustrated for PFBS, PFOS, 6:2 FTSA (FTS) and perfluorooctane sulfonamide (FOSA).

LDTD Optimization (4)

LDTD laser patterns

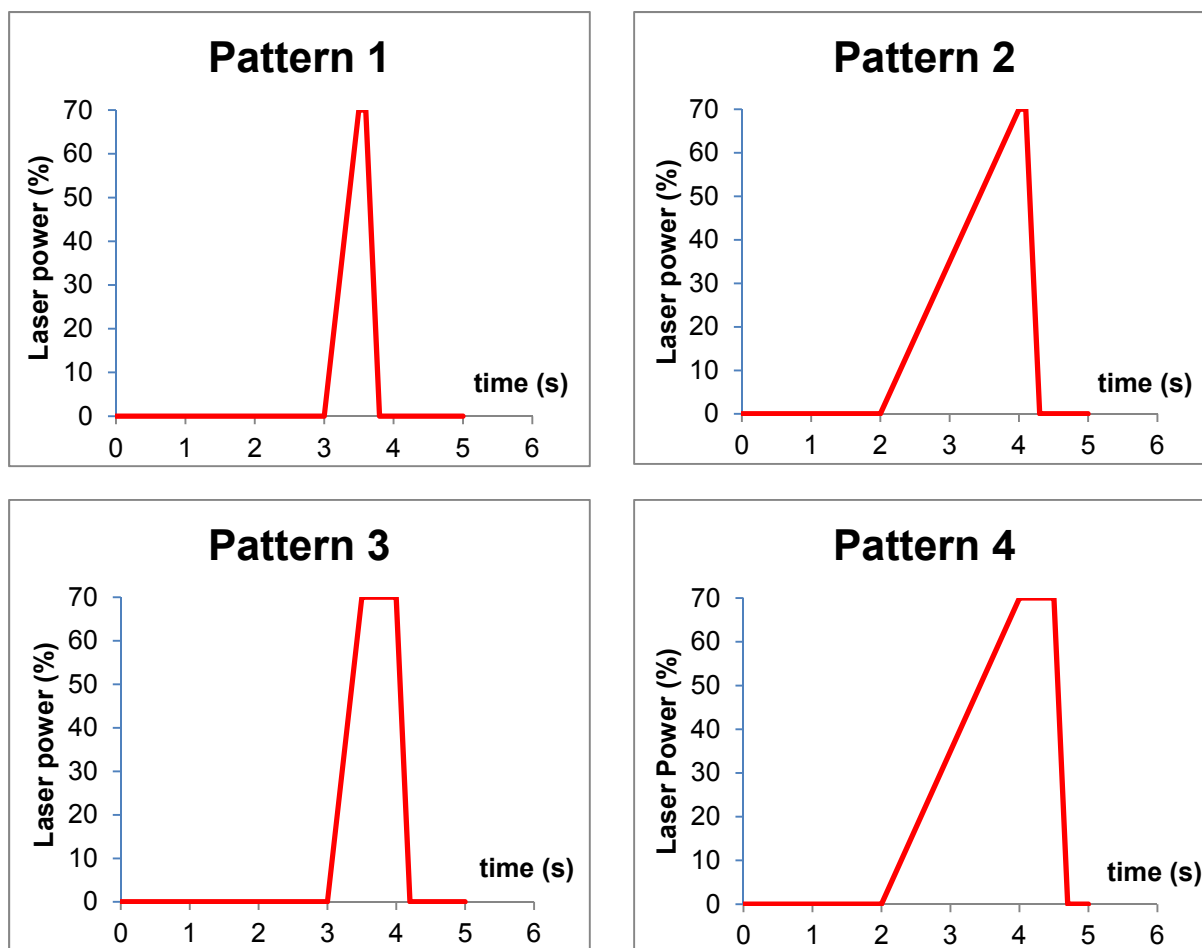


Figure S-9. LDTD laser patterns investigated, presenting different laser ramp and holding time at maximum power settings.

Q-Exactive Optimization (1)

Table S-4. Box Behnken design results for the optimization of Orbitrap parameters. Absolute peak areas were normalized to the observed maximum (green font, in bold). RSD corresponding figures are available in Table S-5.

	PFBA	PFPeA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnA	PFDaA	PFTrDA	PFTeDA	PFHxDA	PFODA	PFBS	PFHxS	PFOS	PFDS	FOSA	6:2 FTS
BB1	25	56	46	53	44	54	48	60	55	47	58	48	25	82	74	45	27	69	38
BB2	49	99	78	85	84	76	79	74	90	72	73	67	45	59	65	49	47	70	45
BB3	100	95	86	95	100	100	100	99	100	100	100	100	100	93	98	96	97	82	100
BB4	56	68	69	68	60	63	60	59	60	54	56	57	75	77	78	75	75	60	78
BB5	47	59	59	70	53	61	58	82	76	80	86	74	80	90	86	82	79	53	75
BB6	57	84	83	80	77	79	84	94	87	90	90	94	92	82	79	85	79	76	75
BB7	47	62	54	60	50	52	51	81	77	92	85	52	85	97	92	85	87	53	68
BB8	57	97	85	85	83	85	86	91	89	94	98	89	99	83	83	83	85	73	88
BB9	26	59	51	53	52	56	62	67	72	64	59	60	44	78	73	64	45	34	50
BB10	91	100	100	100	93	91	86	90	92	88	90	94	91	82	85	89	88	81	97
BB11	38	66	72	60	54	58	58	73	66	64	58	60	35	77	68	70	53	54	66
BB12	82	93	96	100	90	94	93	100	96	91	88	86	95	100	100	100	100	100	97
BB13	56	76	78	71	64	70	82	79	88	86	88	92	70	85	86	84	82	91	67
BB14	53	70	73	73	68	71	70	74	72	72	81	74	76	87	83	83	82	88	80
BB15	50	63	80	74	64	63	65	64	69	70	68	70	85	80	89	94	100	75	87
BB16	63	87	90	83	78	78	83	84	91	89	98	99	95	80	90	96	98	73	89

Q-Exactive Optimization (2)

Table S-5. RSD figures (%) obtained for each Box Behnken Design method, based on 5 replicates. Methods that combined a high AGC target with low or moderate resolution (i.e., BB3, BB10 and BB12) generally provided the lowest variability. Note that the “previous” MS conditions (BB16) that had been applied for LDTD optimization were also included to provide for a reference.

	PFBA	PFPeA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnA	PFDaA	PFTrDA	PFTeDA	PFHxDA	PFODA	PFBS	PFHxS	PFOS	PFDS	FOSA	6:2 FTS
BB1	31	18	16	7	15	16	21	22	18	19	35	14	54	9	9	17	25	29	13
BB2	34	26	39	30	13	12	4	17	17	15	27	46	39	11	16	23	33	15	16
BB3	4	6	7	2	3	4	5	4	6	4	6	3	10	6	6	6	8	35	8
BB4	7	20	27	32	21	26	10	7	10	7	13	12	6	4	5	7	13	24	8
BB5	31	11	14	6	7	12	24	5	19	16	8	31	29	13	16	12	20	34	16
BB6	60	24	15	14	29	23	14	26	14	16	19	21	22	15	20	13	15	28	26
BB7	19	11	11	7	14	11	15	9	22	9	24	21	11	10	12	4	14	15	15
BB8	30	31	22	14	27	12	14	21	12	25	29	27	12	10	8	6	11	18	25
BB9	19	22	23	23	10	10	5	10	14	19	27	12	41	16	15	15	29	30	27
BB10	9	5	2	6	8	7	9	6	10	17	23	24	6	6	5	6	7	22	21
BB11	28	11	11	11	9	20	18	17	25	16	27	18	39	10	10	14	27	25	32
BB12	8	9	9	9	7	8	8	5	8	10	13	12	6	8	7	7	7	28	9
BB13	26	12	10	17	12	21	10	15	11	15	13	28	24	7	7	14	18	30	15
BB14	14	15	7	18	13	10	7	22	22	18	16	23	30	20	14	14	23	52	12
BB15	38	25	14	17	9	8	4	9	3	10	8	9	5	10	11	13	5	21	7
BB16	15	14	11	10	8	7	9	15	13	17	16	20	17	9	12	15	9	17	12

Q-Exactive Optimization (3)

Influence of Orbitrap injection time in the presence of a WWTP matrix

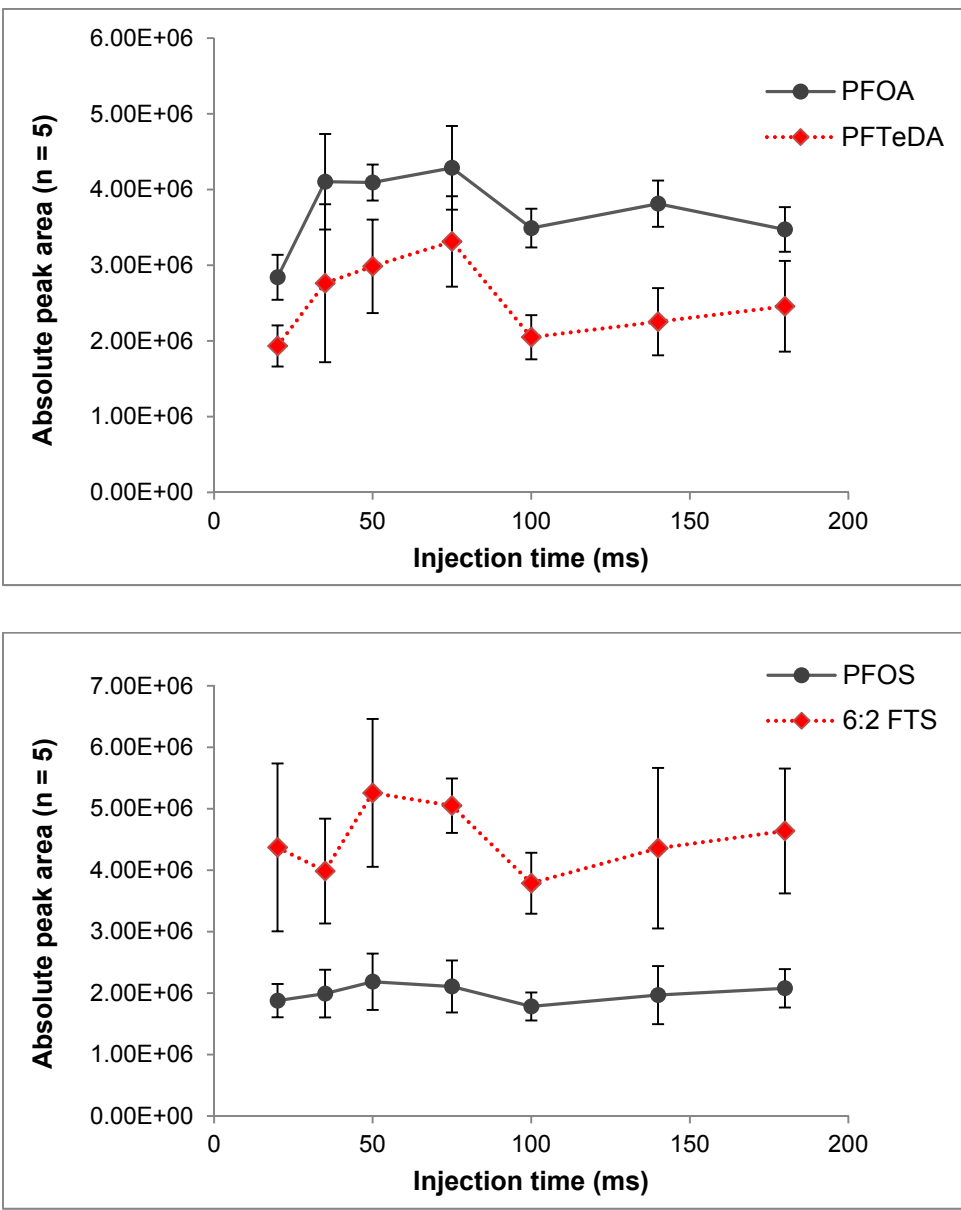


Figure S-10. Influence of injection time in the presence of a wastewater matrix illustrated for selected PFASs.

SPE modifications

Influence of the purification procedure on ion suppression.

Table S-6. Influence of the purification procedure on ion suppression. The performance of five different extraction protocols was assessed on 250 mL of raw wastewater, by spiking post-extraction extracts (in EtOAc) at 120 ng mL⁻¹, and by comparing the absolute peak area observed with that of matrix-free solvent (EtOAc) spiked at 120 ng mL⁻¹. Values superior to 1 therefore indicate signal suppression.

	Strata XAW	Strata XAW + Graphite (0.25 g)	Strata XAW + MeOH wash	Strata XAW + MeOH wash + Graphite (0.25g)	Strata XAW + Coconut Charcoal (2g)
PFBA	3.4	3.6	3.0	2.8	1.0
PFPeA	5.6	5.9	4.6	4.0	1.1
PFHxA	6.3	6.7	5.2	4.6	1.1
PFHpA	6.0	6.5	5.3	4.6	1.0
PFOA	5.6	6.1	5.0	4.3	1.0
PFNA	5.1	5.5	4.4	3.8	0.9
PFDA	4.5	4.8	3.9	3.4	0.9
PFUnA	3.8	4.2	3.2	2.9	0.9
PFDoA	3.3	3.8	2.9	2.5	0.9
PFTTrDA	2.9	3.4	2.5	2.2	0.8
PFTeDA	2.7	3.3	2.4	2.1	0.8
PFHxDA	2.9	3.5	2.6	2.4	1.5
PFODA	1.7	2.3	1.7	1.6	1.0
PFBS	140	61	25	19	1.0
PFHxS	43	27	12	9.0	0.7
PFOS	24	17	8.1	5.7	0.6
PFDS	8.6	5.7	3.6	2.7	0.5
FOSA	1.2	1.1	0.8*	0.7*	1.0
6:2 FTS	1.5	1.0	1.0	1.3	0.7

*Determined in the MeOH wash fraction instead of the MeOH/NH₄OH elution fraction.

Influence of filter nature

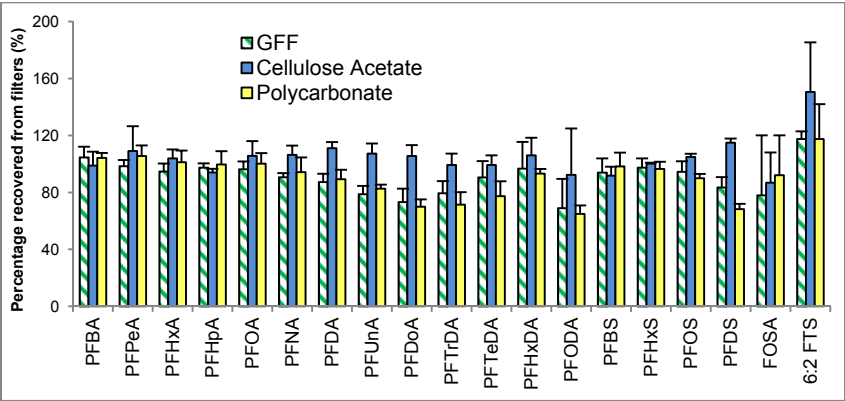


Figure S-11. Mean percentage recovered from filters (n=3). 20 mL of wastewater sample spiked at 200 ng L⁻¹ were passed through the filters and then went through the entire SPE procedure. Three additional spiked replicates were not passed through filters but went through SPE to provide a reference.

ANNEXES DU CHAPITRE IV.1

Une étude d'envergure nationale pour caractériser la distribution spatiale des PFAS et les déterminants de leur accumulation sédimentaire dans 133 fleuves et lacs de France métropolitaine

Electronic Supporting Information

Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: a French nationwide survey

Gabriel Munoz^a, Jean-Luc Giraudel^a, Fabrizio Botta^c, François Lestremau^c, Marie-Hélène Dévier^a,
Hélène Budzinski^b and Pierre Labadie^{b,*}

^a: University of Bordeaux, EPOC, UMR 5805, LPTC, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France.

^b: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France.

^c: INERIS, Parc Technologique Alata, BP2, 60550 Verneuil-en-Halatte, France.

*Corresponding author. Contact: pierre.labadie@u-bordeaux.fr

Table of Contents

List of Sampling Sites	p 517
Chemicals and Standards	p 520
LC-MS/MS method and detection limits	p 522
Statistical Treatment of Non-Detects	p 528
Method Performance	p 531
Complementary Results	p 532
<i>Influence of sampling site type</i>	p 532
<i>Descriptive statistics</i>	p 533
<i>Abundance profile</i>	p 535
<i>Neural networks</i>	p 537
<i>Correlations</i>	p 539
<i>Multiple regression</i>	p 543

1. List of sampling sites

Table S1. Location code, name, type and associated pressure.

Code	Name	Type	Pressure
PE01	Bordeaux	Lake	Artificial lake (strong urban pressure)
PE02	Carcans-Hourtin	Lake	Natural lake
PE03	Saint-Etienne Cantalès	Lake	Anthropic lake with strong pressure
PE04	Soustons	Lake	Natural lake
PE05	Saint-Point	Lake	NA
PE06	Ilay	Lake	NA
PE07	Le Grand Large	Lake	NA
PE08	Caramany	Lake	NA
PE09	Codole	Lake	NA
PE10	Gerardmer	Lake	Natural lake (urban pressure)
PE11	Madine	Lake	Artificial lake (low urban pressure)
PE12	Crescent	Lake	Storage dam
PE13	Saint Quentin	Lake	NA
PE14	Guerledan	Lake	Storage dam
PE15	Villereest	Lake	Storage dam (strong urban and industrial pressure)
PE16	Grangent	Lake	Storage dam (strong urban and industrial pressure)
PE17	Aydat	Lake	Natural lake
PE18	Pavin	Lake	Natural lake
101	Yser	River	Farmland
102	Acre	River	Poor Ecological Status
103	Les Evoissons	River	Reference
104	L'Escaut	River	Urban
201	La Doller	River	Poor Ecological Status
202	La Petite-Fetch	River	Reference
203	La Souffel	River	Farmland
204	Le Madon	River	Farmland
205	La Meurthe	River	Urban
206	La Moselle	River	Urban
207	La Rosselle	River	Industrial
208	La Meholle	River	Reference
301	La Souleuvre	River	Reference
302	Le Noireau	River	Poor Ecological Status
303	L'Airon	River	Farmland
304	L'Itton (point 1)	River	Urban
305	La Risle	River	Industrial
306	L'Itton (point 2)	River	Farmland
307	Le Trinquelin	River	Reference
308	Le Ru d'Ancoeuil	River	Industrial
309	La Seine (point 1)	River	Farmland
310	L'Yerres	River	Urban
311	La Vesle	River	Poor Ecological Status
312	La Seine (point 2)	River	Urban
313	La Joux	River	Reference
314	La Chée	River	Urban
315	La Marne (point 1)	River	Industrial
316	La Marne (point 2)	River	Poor Ecological Status

Table S1. (Continued).

Code	Name	Type	Pressure
401	Loire (point 1)	River	Farmland
402	Furan	River	Urban
403	Loire (point 2)	River	Urban
404	Mare	River	Reference
405	Loire (point 3)	River	Urban
406	Bourbince	River	Industrial
407	Nievre	River	Reference
408	Bedat	River	Urban
409	Dore	River	Industrial
410	Vauvise	River	Farmland
411	Loire (point 4)	River	Farmland
412	Oussance	River	Urban
413	Layon	River	Reference
414	Rau de la Grosse Planche	River	Poor Ecological Status
415	Clain (point 1)	River	Reference
416	Clain (point 2)	River	Urban
417	Sarthe	River	Urban
418	Jouanne	River	Industrial
419	Layon	River	Farmland
420	Boire de la Roche	River	Poor Ecological Status
421	Rau Vignon	River	Poor Ecological Status
422	Petite Boulogne	River	Reference
423	Le Fosse Neuf	River	Poor Ecological Status
424	Rance	River	Industrial
425	Gouët	River	Farmland
426	Oust	River	Industrial
427	Aff	River	Reference
428	Vilaine	River	Farmland
429	Baraize	River	Poor Ecological Status
430	Loire (point 5)	River	Farmland
501	Le Tarnon	River	Reference
502	La Boralde Flaujaguèse	River	Reference
503	Le Tarn	River	Urban
504	L'Arrats	River	Farmland
505	Le Montbrun	River	Reference
506	L'Aveyron	River	Urban
507	Le Bramerit	River	Reference
508	Les Eaux Claires	River	Industrial
509	La Légère	River	Industrial
510	Le Gave de Pau (point 1)	River	Reference
511	Le Bergon	River	Poor Ecological Status
512	Le Luzou	River	Industrial
513	Le Gave de Pau (point 2)	River	Industrial
514	Le Gave de Pau (point 3)	River	Urban
515	L'Hers Mort	River	Poor Ecological Status
516	L'Aussonnelle	River	Poor Ecological Status
517	La Garonne (point 1)	River	Urban
518	Le Dropt	River	Farmland
519	La Gimone	River	Farmland
520	Le Tolzac	River	Farmland
521	La Garonne (point 2)	River	Farmland
522	Le Colinet	River	Poor Ecological Status
523	L'Isle	River	Urban
524	La Dordogne	River	Urban
525	L'Auvézère	River	Farmland
526	L'Isle	River	Farmland

Table S1. (Continued).

Code	Name	Type	Pressure
601	Roanne	River	Reference
602	Ain	River	Reference
603	Luech	River	Reference
604	Vénéon	River	Reference
605	Baume	River	Reference
606	Toulourenc	River	Reference
607	Bourbre	River	Poor Ecological Status
608	Têt	River	Poor Ecological Status
609	Luynes	River	Poor Ecological Status
610	Lanterne	River	Poor Ecological Status
611	Salon	River	Poor Ecological Status
612	Ouche	River	Urban
613	Reyssouze	River	Urban
614	Rhône (point 1)	River	Urban
615	Lez	River	Urban
616	Durgeon	River	Urban
617	Tillet	River	Industrial
618	Gier	River	Industrial
619	Avène	River	Industrial
620	Drac	River	Industrial
622	Guyotte	River	Farmland
623	Corne	River	Farmland
624	Ardières	River	Farmland
625	Saône	River	Farmland
626	Auzon	River	Farmland
627	Agulla del Mar	River	Farmland
629	Ru d'Aitone	River	Reference
630	Tavignano	River	Urban
631	Rhône (point 2)	River	Urban

2. Chemicals and Standards

Solutions of native PFASs had chemical purities greater than 98% for individual compounds and were all acquired from Wellington Laboratories (B.C.P. Instruments, Irigny, France). Native PFC-MXA mixture was acquired from Wellington and consisted of eleven linear perfluorinated carboxylic acids at $2\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ in methanol (MeOH), namely: perfluoro-n-butanoic acid (PFBA), perfluoro-n-pentanoic acid (PFPeA), perfluoro-n-hexanoic acid (PFHxA), perfluoro-n-heptanoic acid (PFHpA), perfluoro-n-octanoic acid (PFOA), perfluoro-n-nonanoic acid (PFNA), perfluoro-n-decanoic acid (PFDA), perfluoro-n-undecanoic acid (PFUnA), perfluoro-n-dodecanoic acid (PFDoA), perfluoro-n-tridecanoic acid (PFTTrDA) and perfluoro-n-tetradecanoic acid (PFTeDA). PFS-MXA contained five linear perfluoroalkyl sulfonic acids at $2\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ in MeOH (concentration as the salt): perfluoro-1-butanedisulfonate (PFBS) potassium salt, perfluoro-1-hexanesulfonate (PFHxS) sodium salt, perfluoro-1-heptanesulfonate (PFHpS) sodium salt, n-perfluoro-1-octanesulfonate (L-PFOS) sodium salt and perfluoro-1-decanedisulfonate (PFDS) sodium salt. FOSA-M, N-MeFOSA-M, N-EtFOSA-M, MeFOSAA-M, EtFOSAA-M and 6:2 FTSA native solutions contained perfluorooctane sulfonamide (FOSA), N-methyl perfluorooctane sulfonamide (MeFOSA), N-ethyl perfluorooctane sulfonamide (EtFOSA), 2-(N-methyl perfluorooctane sulfonamido) acetic acid (MeFOSAA), 2-(N-ethyl perfluorooctane sulfonamido) acetic acid (EtFOSAA), and 1H,1H,2H,2H-perfluorooctane sulfonate (6:2 FTSA) respectively, each at $50\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$. Given that no standard was available for PFOS branched isomers (henceforth referred to as Br-PFOS), the concentrations were calculated from the calibration curve used for L-PFOS. Note that, in this paper, “PFOS” refers to the sum of linear and branched isomers. Solutions of isotopically labeled compounds had chemical purities greater than 98% and isotopic purities greater than 99%, each 1.2 mL glass ampoule containing a single compound at $50\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ in MeOH. Internal standards (IS) were all purchased from Wellington Laboratories. Complementary data on internal standards are supplied in **Table S3**. HPLC-grade ethanol (EtOH) was from Scharlau (ICS, Gradignan, France), while MeOH and acetonitrile (ACN) were from J.T. Baker (Atlantic Labo, Bruges, France). Ultrapure water was obtained using a Millipore Elix 10 system fitted with an EDS Pak polisher, and Vittel water was used as a mineral water matrix for SPE procedural blanks. Ammonium hydroxide (NH_4OH) (28.0-30.0% NH_3 basis) and ammonium acetate ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) (17836 Fluka) for HPLC ($\geq 99.0\%$) were both purchased from Sigma-Aldrich (St Quentin Fallavier, France). Nitrogen gas (99.999%) was from Linde (St Priest, France). Strata X-AW cartridges (200 mg/6 mL) were supplied by Phenomenex (Le Pecq, France). The Supelco 12-port SPE vacuum manifold and Supelclean ENVI-Carb cartridges (0.25 g/6 mL) were both obtained from Sigma-Aldrich (St Quentin Fallavier, France). Whatman GF/F glass microfiber filters were from VWR International (Fontenay Sous Bois, France).

Table S2. List of PFAS molecules targeted in this study.

<i>Acronym</i>	Compound name	Molecular formula
PFBA	perfluoro-n-butanoic acid	C ₃ F ₇ COOH
PFPeA	perfluoro-n-pentanoic acid	C ₄ F ₉ COOH
PFHxA	perfluoro-n-hexanoic acid	C ₅ F ₁₁ COOH
PFHpA	perfluoro-n-heptanoic acid	C ₆ F ₁₃ COOH
PFOA	perfluoro-n-octanoic acid	C ₇ F ₁₅ COOH
PFNA	perfluoro-n-nonanoic acid	C ₈ F ₁₇ COOH
PFDA	perfluoro-n-decanoic acid	C ₉ F ₁₉ COOH
PFUnA	perfluoro-n-undecanoic acid	C ₁₀ F ₂₁ COOH
PFDoA	perfluoro-n-dodecanoic acid	C ₁₁ F ₂₃ COOH
PFTTrDA	perfluoro-n-tridecanoic acid	C ₁₂ F ₂₅ COOH
PFTeDA	perfluoro-n-tetradecanoic acid	C ₁₃ F ₂₇ COOH
PFBS	perfluoro-1-butanedisulfonic acid	C ₄ F ₉ SO ₃ H
PFHxS	perfluoro-1-hexanedisulfonic acid	C ₆ F ₁₃ SO ₃ H
PFHpS	perfluoro-1-heptanedisulfonic acid	C ₇ F ₁₅ SO ₃ H
Br-PFOS	(cluster of branched PFOS isomers)	-
L-PFOS	n-perfluoro-1-octanedisulfonic acid	C ₈ F ₁₇ SO ₃ H
PFDS	perfluoro-1-decanedisulfonic acid	C ₁₀ F ₂₁ SO ₃ H
MeFOSAA	2-(N-methyl perfluorooctane sulfonamido) acetic acid	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(CH ₃)CH ₂ COOH
EtFOSAA	2-(N-ethyl perfluorooctane sulfonamido) acetic acid	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(C ₂ H ₅)CH ₂ COOH
FOSA	perfluorooctane sulfonamide	C ₈ F ₁₇ SO ₂ NH ₂
MeFOSA	N-methyl perfluorooctane sulfonamide	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(CH ₃)H
EtFOSA	N-ethyl perfluorooctane sulfonamide	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(C ₂ H ₅)H
6:2 FTSA	1H,1H,2H,2H-perfluorooctane sulfonate	C ₆ F ₁₃ CH ₂ CH ₂ SO ₃ H

3. LC-MS/MS method and detection limits

3.a. Liquid chromatography separation

Liquid chromatography was performed by an Agilent 1200 Infinity HPLC series, an Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 column (2.1 x 100 mm; dp = 1.8 μ m) being the chromatographic column. A Zorbax SB C18 column (2.1 x 30 mm; dp = 3.5 μ m) was used as a trap to remove potential PFASs from the aqueous mobile phase, and was positioned immediately after the pump A head and prior to the point at which the gradient mix is achieved (Labadie and Chevreuil, 2011b). Milli-Q water containing 2 mM ammonium acetate was used as the aqueous phase (A), while the organic phase consisted of a 95:5 (v/v) ACN/Milli-Q water solvent with 2mM ammonium acetate (B). The quaternary pump delivered a constant flow of 0.5 mL min⁻¹. The injection volume was set at 5 μ L and the column inlet temperature at 35°C. Gradient elution consisted of an initial 0 – 0.6 min step at a 80:20 A:B ratio, followed by a gradual increase of B channel from 20 to 72.5% (0.6 – 8 min), and then from 72.5 to 100% (8 – 9.5 min). The 0:100 A:B ratio was held for 2 minutes (9.5 – 11.5 min), then quickly returned to the 80:20 initial set up (11.5 – 12 min) which was kept constant for 3.5 minutes to allow the system to equilibrate (12 – 15.5 min). A 90/10 ACN/Milli-Q water mixture was used to rinse the injection needle prior to injection.

3.b. Tandem mass spectrometry analysis

PFAS were analyzed with an Agilent 6460 triple quadrupole mass spectrometer from Agilent Technologies (Massy, France) operated in dynamic multiple reaction monitoring (DMRM) mode. DMRM acquisition windows were centered at the expected elution time of the analytes and set at 1.25 min, which was long enough to acquire the signal in case of retention time fluctuations, but short enough to minimize the number of overlapping transitions. The electrospray ionization source was operated in negative mode. Nebulizing gas temperature was set at 320°C, with a 8 L min⁻¹ flow rate and a nebulization pressure of 60 psi. Sheath gas temperature and flow rate were set at 350°C and 12 L min⁻¹, respectively. No nozzle skimmer voltage was applied, and chamber acceleration voltage was fixed at 7V. Internal standard MRM transitions are shown in Table S2. Analyte quantitation and confirmation transitions are available in Table S3, as well as collision energy and fragmentor voltage.

Table S3. Internal standard names and corresponding MRM transitions

IS compound	IS acronym	Quantitation transition (m/z)
[1,2- ¹³ C ₂] PFHxA	MPFHxA	314.9 → 269.9
[1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOA	MPFOA	416.9 → 371.9
[1,2- ¹³ C ₂] PFDA	MPFDA	514.9 → 469.9
[1,2- ¹³ C ₂] PFUnA	MPFUnA	565.0 → 520.0
[1,2- ¹³ C ₂] PFDoA	MPFDoA	615.0 → 570.0
Sodium [1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOS	MPFOS	502.9 → 79.9
D ₃ -N-MeFOSAA	d-N-MeFOSAA	573.0 → 418.9
[¹³ C ₈] FOSA	MFOSA	505.9 → 77.9
D ₃ -N-MeFOSA	d-N-MeFOSA	514.9 → 168.9
D ₅ -N-EtFOSA	d-N-EtFOSA	531.0 → 168.9

Table S4. Mass spectrometry acquisition parameters. Collision energy and fragmentor voltage correspond to analyte quantitation transitions.

Analyte	Collision Energy (V)	Fragmentor (V)	Analyte quantitation (Q) transition (m/z)	Analyte confirmation (C) transition (m/z)	Q/C ratio	Corresponding internal standard
PFBA	4	64	213.0 → 168.9	-	-	MPFHxA
PFPeA	2	67	263.0 → 218.9	-	-	MPFHxA
PFHxA	2	72	313.0 → 268.9	313.0 → 118.9	6.3	MPFHxA
PFHpA	2	72	363.0 → 318.9	363.0 → 168.9	28	MPFOA
PFOA	4	82	413.0 → 368.9	413.0 → 168.9	30	MPFOA
PFNA	4	77	463.0 → 418.9	463.0 → 218.9	18	MPFOA
PFDA	4	88	513.0 → 468.9	513.0 → 268.9	8.7	MPFDA
PFUnA	4	88	563.0 → 518.9	563.0 → 268.9	8.8	MPFUnA
PFDoA	4	93	613.0 → 568.9	613.0 → 168.9	11.9	MPFDoA
PFTTrDA	4	94	663.0 → 618.9	663.0 → 369.0	6.6	MPFDoA
PFTeDA	8	99	712.9 → 668.8	712.9 → 419.0	4.6	MPFDoA
PFBS	28	131	298.9 → 79.9	298.9 → 98.9	29	MPFOS
PFHxS	52	151	398.9 → 79.9	398.9 → 98.9	30	MPFOS
PFHpS	56	168	448.9 → 79.9	448.9 → 98.9	30	MPFOS
L-PFOS	60	188	498.9 → 79.9	498.9 → 98.9	33	MPFOS
PFDS	76	220	598.9 → 79.9	598.9 → 98.9	31	MPFOS
MeFOSAA	16	119	570.0 → 511.8	570.0 → 418.8	44	d-N-MeFOSAA
EtFOSAA	16	129	584.0 → 525.8	584.0 → 418.8	202	d-N-MeFOSAA
FOSA	36	151	497.9 → 77.9	-	-	MFOSA
MeFOSA	28	126	512.0 → 168.9	512.0 → 218.9	79	d-N-MeFOSA
EtFOSA	28	146	526.0 → 168.9	526.0 → 218.9	76	d-N-EtFOSA
6:2 FTSA	20	84	427.0 → 406.8	427.0 → 79.9	31	MPFOS

3.c. Sample concentration determination

Peak integration was carried out with the Agilent MassHunter Workstation software. Peaks were discarded whenever i) the signal to noise ratio (SNR) of the quantitation transition was less than 3, ii) the confirmation transition to quantitation transition ratio did not match the expected value (tolerance: $\pm 25\%$), or iii) the signal to noise ratio (SNR) of the confirmation transition was less than 3. The MassHunter Quantitative Analysis tool was set up to compute automatically the mass of analyte in the sample, derived from the areas of the analyte and its IS, the expected amount of IS in sample, and the analyte-IS response ratio which was determined with a five-point calibration curve. All sample concentrations were then corrected by: i) subtracting the mean procedural blank level of the corresponding analyte and ii) dividing by the amount of sample.

3.d. Detection limit (LOD) calculation

The calculation of detection limits was conducted according to the following sequence:

i) When analytes were found in procedural blanks, detection limits were calculated as the standard deviation of blank levels, corrected by the $t_{n-1,95}$ student coefficient, n being the number of blank replicates.

ii) For analytes that were not detected in procedural blanks, but that could be quantified in samples, the detection limit was determined by the following equation:

$$\text{LOD} = 3 \times C_{\text{sample}} / \text{SNR}_{\text{sample}}$$

C_{sample} being the concentration in the sample, and $\text{SNR}_{\text{sample}}$ the corresponding signal to noise ratio, determined with the Agilent MassHunter Qualitative Analysis tool. When two transitions were followed (quantitation and confirmation), the transition with the lowest SNR was chosen for LOD calculation. Note that samples in which the analyte was present at low concentrations (typically, $0.1 - 0.2 \text{ ng L}^{-1}$ for water samples and $0.1 - 0.2 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ for sediment samples) were preferentially chosen for LOD calculation.

iii) For analytes that were detected neither in procedural blanks, nor in samples, the detection limit was determined by the following equation:

$$\text{LOD} = 3 \times C_{\text{spike}} / \text{SNR}_{\text{spike}}$$

with C_{spike} the concentration in the spiked sample, and $\text{SNR}_{\text{spike}}$ the corresponding signal to noise ratio, determined with the Agilent MassHunter Qualitative Analysis tool. As previously mentioned, when two transitions were followed (quantitation and confirmation), the transition with the lowest SNR was chosen for LOD calculation.

Table S5. PFAS levels in blanks in nanograms. Results are given as mean \pm standard deviation.

	Water blanks (ng)	Sediment blanks (ng)
Matrix	Vittel water (500 mL)	MeOH (10 mL)
Number of blanks	51	11
PFBA	0.04 \pm 0.05	0.09 \pm 0.10
PFPeA	0.15 \pm 0.08	0.21 \pm 0.10
PFHxA	0.01 \pm 0.03	0.25 \pm 0.51
PFHpA	0.003 \pm 0.01	0.02 \pm 0.06
PFOA	0.01 \pm 0.02	0.04 \pm 0.06
PFNA	nd*	0.01 \pm 0.02
PFDA	0.004 \pm 0.02	0.03 \pm 0.03
PFUnA	0.002 \pm 0.02	0.003 \pm 0.01
PFDoA	nd	nd
PFTTrDA	nd	nd
PFTeDA	nd	nd
PFBS	0.001 \pm 0.005	0.001 \pm 0.005
PFHxS	nd	nd
PFHpS	nd	nd
Br-PFOS	0.001 \pm 0.004	nd
L-PFOS	0.005 \pm 0.02	0.002 \pm 0.004
PFDS	0.002 \pm 0.01	nd
MeFOSAA	NA**	nd
EtFOSAA	NA	nd
FOSA	0.01 \pm 0.02	0.002 \pm 0.001
MeFOSA	0.005 \pm 0.03	0.001 \pm 0.004
EtFOSA	0.002 \pm 0.02	nd
6:2 FTSA	nd	nd

*nd: below detection limit. **NA: not available.

Table S6. PFAS instrumental and method detection limits. The calculation method applied (i, ii or iii) is indicated in brackets.

	Instrumental	Method	Method
	LOD	LOD	LOD
Matrix	MeOH	Water*	Sediment**
Unit	fg injected	ng L ⁻¹	ng g ⁻¹ dw
PFBA	210	0.17 (i)*	NQ*
PFPeA	137	0.27 (i)	NQ
PFHxA	216	0.10 (i)	NQ
PFHpA	283	0.05 (i)	0.12 (i)
PFOA	280	0.08 (i)	0.11 (i)
PFNA	156	0.04 (ii)*	0.04 (i)
PFDA	299	0.07 (i)	0.05 (i)
PFUnA	183	0.05 (i)	0.01 (i)
PFDoA	241	0.07 (ii)	0.06 (ii)
PFTTrDA	312	0.02 (ii)	0.02 (ii)
PFTeDA	246	0.07 (iii)*	0.02 (ii)
PFBS	41	0.02 (i)	NQ
PFHxS	18	0.02 (ii)	0.02 (ii)
PFHpS	7	0.02 (ii)	0.03 (ii)
Br-PFOS	NA*	0.01 (i)	0.04 (ii)
L-PFOS	20	0.06 (i)	0.01 (i)
PFDS	8	0.04 (i)	0.18 (ii)
MeFOSAA	14	NA**	0.01 (ii)
EtFOSAA	76	NA**	0.01 (ii)
FOSA	14	0.06 (i)	0.003 (i)
MeFOSA	40	0.09 (i)	0.01 (i)
EtFOSA	35	0.06 (i)	0.001 (ii)
6:2 FTSA	15	0.05 (ii)	NQ

*LOD calculated for a 0.5 L water sample

**LOD calculated for a 1g sediment sample

*NA: No standard solution was available for Br-PFOS.

**NA: not available.

*NQ: analyte not targeted in the sediment matrix.

*(i): method LOD derived from the standard deviation of blanks, corrected by the $t_{n-1,95}$ coefficient.

*(ii): method LOD derived from the S/N ratio of low contaminated samples.

*(iii): method LOD derived from the S/N ratio of spiked samples.

4. Statistical treatment of non-detects

4.a. Descriptive statistics

Each PFAS was matched with a logical vector that stated whether the concentration observed at a given sampling site was censored or uncensored, following the methodology described in the ASA Workshop for Analysis of Environmental Data With Nondetects (Helsel and Lee, 2006). Median, mean and standard deviation were then computed with the *cenros* (for the Regression on Order Statistics) and the *cenfit* (for the Kaplan Meier estimate) functions of the NADA R-package. Note that when there were more than 50% non-detects, the Kaplan Meier treatment failed to provide a value for the median.

4.b. Differences between groups

Each PFAS was matched with a logical vector that stated whether the concentration observed at a given sampling site was censored or uncensored. Tests for differences between groups (pressure typology) were performed with the *cendiff* function of the NADA R-package to investigate the influence of sampling site type (farmland, industrial, poor ecological status, urban and reference) on PFAS levels in the dissolved phase and in the sediment.

4.c. Correlations between compounds

Correlations between compounds in the dissolved phase (or in the sediment) were performed with the *cenken* function of the NADA R-package which provided the p-value, Kendall's tau, as well as the Akritas-Theil-Shen (ATS) slope estimator. Note that ATS provides a non-parametric regression ($Y = f(X)$) for data sets in which X and Y may both contain censored data. Also note that when using the *cenken* command for a $Y=f(X)$ regression, Y and Y_{cen} should appear before X and X_{cen} :

> *cenken*(Y, Y_{cen} , X, X_{cen}). Note that compounds with more than 80% censoring percentage were not considered.

4.d. Estimation of K_d via regression

An estimation of mean sediment-water partitioning coefficient taking into account non-detects was conducted with the following procedure:

- i) For each site, the same results in the sediment (only one campaign) were used 3 times to match with the results in the dissolved phase (three campaigns). The final data set was comprised of $n = 324$ values.

- ii) Similarly, only 16 PFAS compounds (targeted both in the dissolved and sediment phase) were considered.
- iii) In the sediment, a logical vector of censored observations was associated with each compound, indicating “TRUE” when the value was censored, and “FALSE” otherwise.
- iv) Step (iv) was applied to the dissolved phase as well.
- v) Concentrations in the sediment were multiplied by 1000 to convert results to ng kg^{-1} .
- vi) The 64x324 table was imported in R-studio. For each compound, mean K_d was finally estimated via regression with the `cenken` function of the NADA R-Package (R-code example shown below).

```
> cenken (L_PFOS_sed, L_PFOS_sed_CEN, L_PFOS_water, L_PFOS_water_CEN)
```

4.d. Estimation of K_{OC} via regression

- i) Repeat steps (i) to (vi) (described previously in 4.d.)
- ii) f_{oc} values were used 3 times to match with the results in the dissolved phase (three campaigns for the dissolved phase).
- iii) f_{oc} values were missing for two sites (#425 and #612), which were therefore not taken into account. The final data set was comprised of $n = 320$ values.
- iv) Sediment values (in ng kg^{-1}) were multiplied by $100/f_{oc}$ (f_{oc} being given in %).
- v) The 64x320 table was imported to R-studio. For each compound, the mean K_{OC} was finally estimated via regression with the `cenken` function of the NADA R-Package.

4.e. Multiple regression investigating the combined influence of grain size and f_{OC} on PFAS levels in the sediment.

- i) PFAS compounds with censoring percentages $> 80\%$ were not taken into account. The multiple regression approach was therefore applied to PFNA, PFDA, PFUnA, PFDoA, PFTTrDA, PFTTeDA, Br-PFOS, L-PFOS, MeFOSAA and FOSA only.
- ii) Explanatory variables were centered and reduced:

$$f_{oc} = X_1, \text{ silt content} = X_2$$

$$X_i \leftarrow (X_i - \text{mean}) / \text{SD}$$

- iii) Each PFAS was matched with a logical vector that stated whether the concentration in the sediment observed at a given location was censored or uncensored.
- iv) PFAS concentrations in the sediment (Y) were replaced by $Y + 1$ to apply the logarithm.

- v) The correlation between Y (PFAS levels) and the two explanatory variables X_1 (f_{oc}) and X_2 (silt content) was performed with the *cenreg* function of the NADA R-package, using the following model: $\ln(1 + Y) = \alpha + \beta \cdot X_1 + \gamma \cdot X_2$

4.f. Multiple regression investigating the combined influence of grain size, f_{oc} and PFAS levels in the dissolved phase on PFAS levels in the sediment.

- i) PFAS compounds with censoring percentages > 80% (either in the sediment or in the dissolved phase) were not taken into account. The multiple regression approach was therefore applied to PFNA, PFDA, Br-PFOS, L-PFOS and FOSA only.
- ii) Each PFAS was matched with a logical vector that stated whether the concentration in the sediment (Y) observed at a given location was censored or uncensored. Note that when performing the multiple regression with the *cenreg* function, only Y can be matched with a vector of censoring indications. Consequently, for PFAS concentrations in the dissolved phase (X_3), the 0 x LOD substitution method was used for concentrations falling below the limit of detection.
- iii) Explanatory variables were centered and reduced:

$f_{oc} = X_1$, silt content = X_2 , PFAS concentrations in the dissolved phase = X_3

$X_i \leftarrow (X_i - \text{mean}) / \text{SD}$

- iv) PFAS concentrations in the sediment (Y) were replaced by $Y + 1$ to apply the logarithm.
- v) The correlation between Y (PFAS concentrations in the sediment) and the three explanatory variables X_1 (f_{oc}), X_2 (silt content) and X_3 (PFAS concentrations in the dissolved phase) was performed with the *cenreg* function of the NADA R-package, using the following model: $\ln(1 + Y) = \alpha + \beta \cdot X_1 + \gamma \cdot X_2 + \delta \cdot X_3$

Note that, since up to 3 values were available for concentrations in the dissolved phase (3 sampling campaigns having been conducted in the case of surface waters), concentrations in the sediment as well as sediment characteristics (X_1 , X_2) were used up to three times to match with values in the dissolved phase. The final data set was therefore comprised of $n=318$ values.

References

D. R. Helsel (2012), "Statistics for Censored Environmental Data Using Minitab and R", Second Edition, Wiley.

5. Method performance

Table S7. PFAS accuracy and recovery rates (%). Whenever possible, results are given as mean \pm standard deviation.

	Vittel water (500 mL)	Vittel water (500 mL)	Reference sand** (1 g)	Reference sand (1 g)
Replicates	8	12	3	3
Spike type	Recovery	Accuracy	Recovery	Accuracy
Spike level	1 ng L ⁻¹	1 ng L ⁻¹	0.5 ng g ⁻¹ dw	0.5 ng g ⁻¹ dw***
PFBA	128 \pm 48	123 \pm 35	NQ*	NQ
PFPeA	114 \pm 27	113 \pm 26	NQ	NQ
PFHxA	134 \pm 49	129 \pm 34	NQ	NQ
PFHpA	108 \pm 9	113 \pm 21	67 \pm 10	93 \pm 9
PFOA	106 \pm 13	111 \pm 22	65 \pm 11	101 \pm 9
PFNA	98 \pm 6	101 \pm 14	69 \pm 9	104 \pm 3
PFDA	92 \pm 12	114 \pm 14	86 \pm 11	107 \pm 3
PFUnA	74 \pm 10	117 \pm 15	76 \pm 10	104 \pm 8
PFDaA	72 \pm 9	131 \pm 18	84 \pm 7	117 \pm 7
PFTTrDA	57 \pm 13	107 \pm 15	76 \pm 8	107 \pm 10
PFTeDA	60 \pm 13	110 \pm 23	83 \pm 10	107 \pm 17
PFBS	114 \pm 13	144 \pm 30	NQ	NQ
PFHxS	106 \pm 10	138 \pm 23	64 \pm 3	105 \pm 11
PFHpS	104 \pm 11	132 \pm 22	66 \pm 5	101 \pm 1
L-PFOS	82 \pm 7	110 \pm 18	75 \pm 4	112 \pm 7
PFDS	60 \pm 7	78 \pm 14	65 \pm 4	110 \pm 3
MeFOSAA	NA****	NA	60 \pm 3	115 \pm 19
EtFOSAA	NA	NA	75 \pm 3	86 \pm 27
FOSA	84 \pm 5	110 \pm 17	63 \pm 3	87 \pm 4
MeFOSA	54 \pm 9	91 \pm 51	61 \pm 4	100 \pm 3
EtFOSA	53 \pm 10	100 \pm 48	56 \pm 4	105 \pm 11
6:2 FTSA	74 \pm 7	97 \pm 4	NQ	NQ

*NQ: analyte not targeted in the sediment matrix.

** : Fontainebleau reference sand.

***: dw = dry weight

****NA: not available.

6. Complementary results

Influence of sampling site type: water samples

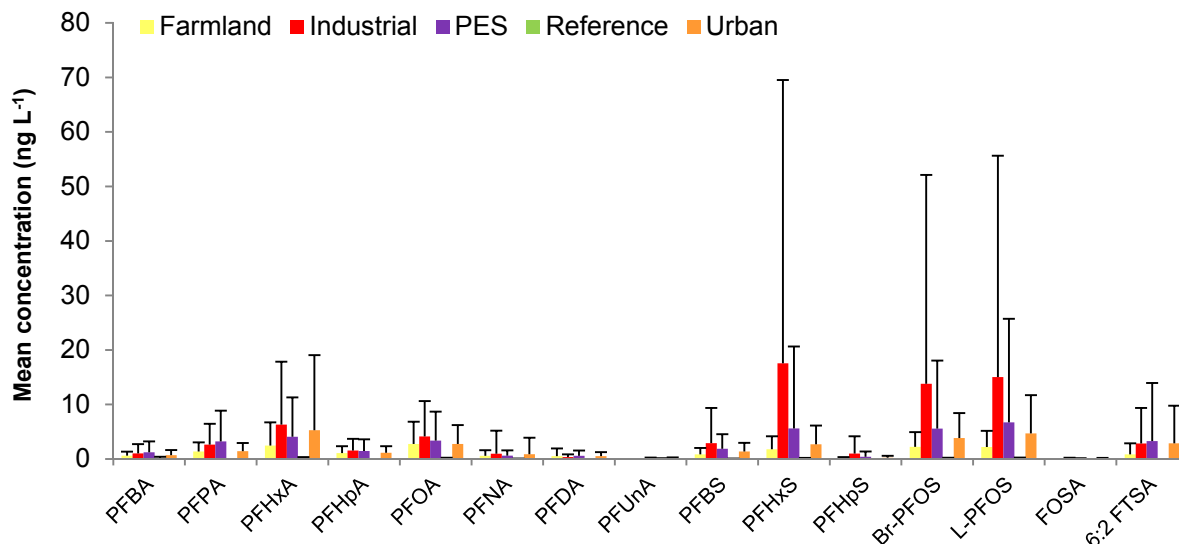


Fig.S1. Average levels found in rivers (dissolved phase, n=315), according to site typology: farmland (n=76), industrial (n=48), poor ecological status (PES, n=53), reference (n=64), and urban (n=74). Mean concentrations were determined with the *cenros* function of the NADA R-package. Error bars indicate standard deviation.

Influence of sampling site type: sediment samples

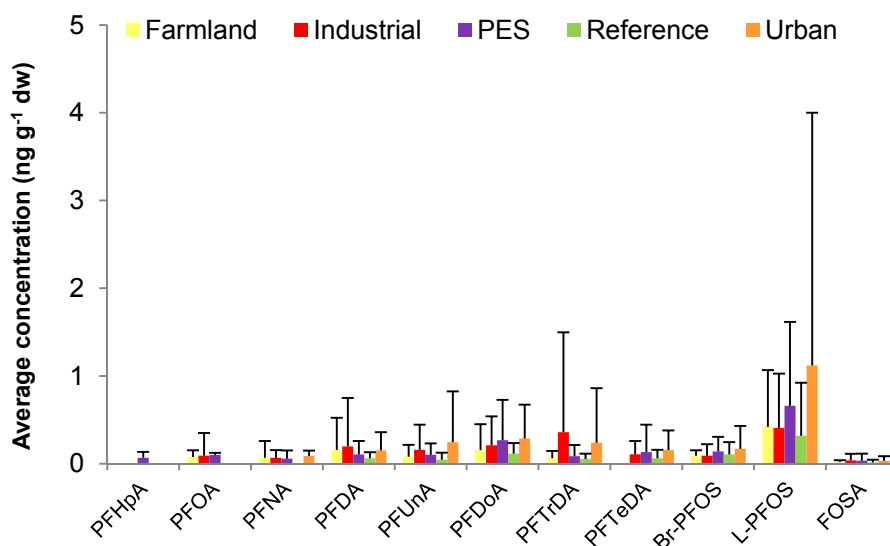


Fig.S2. Average levels (using the *cenros* function of the NADA R-package) found in riverine sediments (n=110), according to site typology: farmland (n=26), industrial (n=18), poor ecological status (PES, n=18), reference (n=22), and urban (n=26). Error bars indicate standard deviation.

Descriptive statistics (1)

Table S8. Descriptive statistics for individual compounds in the dissolved phase (n=333) with various statistical treatments of non-detects. Results are in ng L⁻¹. For KM (Kaplan Meier) and ROS, mean concentrations were reported as NC for censoring percentages > 80%.

	Substitution by 0.5 x LOD		Substitution by 0 x LOD		KM		ROS		Censoring percentage
	Mean ± sd	Med.	Mean ± sd	Med.	Mean ± sd	Med.	Mean ± sd	Med.	
PFBA	0.70 ± 1.27	< LOD	0.66 ± 1.30	< LOD	0.75 ± 1.25	NA	0.71 ± 1.27	0.23	50.4 %
PFPeA	1.71 ± 3.56	0.57	1.66 ± 3.52	0.57	1.77 ± 3.47	0.57	1.73 ± 3.49	0.57	42.3 %
PFHxA	3.56 ± 9.12	0.93	3.54 ± 9.12	0.93	3.57 ± 9.12	0.93	3.58 ± 9.11	0.93	28.5 %
PFHpA	1.06 ± 1.82	0.47	1.06 ± 1.82	0.47	1.07 ± 1.82	0.47	1.08 ± 1.81	0.47	30.0 %
PFOA	2.54 ± 4.45	0.94	2.53 ± 4.45	0.94	2.55 ± 4.44	0.94	2.55 ± 4.44	0.94	16.2 %
PFNA	0.60 ± 2.27	0.17	0.59 ± 2.27	0.17	0.61 ± 2.27	0.17	0.60 ± 2.27	0.17	34.2 %
PFDA	0.40 ± 0.89	0.12	0.38 ± 0.90	0.12	0.42 ± 0.89	0.12	0.40 ± 0.89	0.12	45.4 %
PFUnA	0.07 ± 0.14	< LOD	0.05 ± 0.15	< LOD	NC	NC	NC	NC	83.5 %
PFDnA	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	NC	NC	NC	NC	96.1 %
PFTTrDA	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	NC	NC	NC	NC	99.4 %
PFTeDA	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	NC	NC	NC	NC	100 %
PFBS	1.27 ± 3.05	0.35	1.27 ± 3.05	0.35	1.28 ± 3.05	0.35	1.29 ± 3.04	0.35	34.8 %
PFHxS	4.72 ± 21.8	0.78	4.72 ± 21.8	0.78	4.72 ± 21.8	0.78	4.73 ± 21.8	0.78	18.9 %
PFHpS	0.30 ± 1.33	< LOD	0.29 ± 1.33	< LOD	0.31 ± 1.33	NA	0.30 ± 1.33	0.03	58.2 %
Br-PFOS	4.55 ± 16.5	1.08	4.55 ± 16.5	1.08	4.56 ± 16.5	1.08	4.56 ± 16.5	1.08	14.1 %
L-PFOS	5.14 ± 18.6	0.90	5.14 ± 18.6	0.90	5.15 ± 18.6	0.90	5.15 ± 18.6	0.90	15.3 %
PFDS	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	NC	NC	NC	NC	98.5 %
FOSA	0.06 ± 0.09	< LOD	< LOD	< LOD	0.08 ± 0.08	NA	< LOD	< LOD	79.9 %
MeFOSA	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	NC	NC	NC	NC	99.1 %
EtFOSA	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	NC	NC	NC	NC	98.8 %
6:2 FTSA	2.10 ± 8.23	0.19	2.08 ± 8.23	0.19	2.13 ± 8.23	0.19	2.10 ± 8.23	0.19	48.3 %
ΣPFASs	28.6 ± 75.2	8.13	28.2 ± 75.3	7.88					

Descriptive statistics (2)

Table S9. Descriptive statistics for individual compounds in the sediment (n=129) with various statistical treatments of non-detects. Results are in ng g⁻¹ dw. For KM (Kaplan Meier) and ROS, mean concentrations were reported as NC for censoring percentages > 80%.

	Substitution by 0.5 x LOD		Substitution by 0 x LOD		KM		ROS		Censoring percentage
	Mean ± sd	Med.	Mean ± sd	Med.	Mean ± sd	Med.	Mean ± sd	Med.	
PFHpA	< lod	< lod	< lod	< lod	NC	NC	NC	NC	92.2 %
PFOA	< lod	< lod	< lod	< lod	NC	NC	NC	NC	83.7 %
PFNA	0.06 ± 0.11	< lod	0.05 ± 0.12	< lod	0.08 ± 0.11	NA	0.06 ± 0.11	< lod	75.2 %
PFDA	0.13 ± 0.29	< lod	0.12 ± 0.30	< lod	0.14 ± 0.29	NA	0.13 ± 0.29	< lod	54.3 %
PFUnA	0.12 ± 0.30	< lod	0.12 ± 0.30	< lod	0.13 ± 0.30	NA	0.12 ± 0.30	0.03	52.7 %
PFDoA	0.19 ± 0.31	< lod	0.17 ± 0.32	< lod	0.21 ± 0.30	NA	0.19 ± 0.31	0.06	57.4 %
PFTTrDA	0.14 ± 0.52	< lod	0.13 ± 0.53	< lod	0.15 ± 0.52	NA	0.14 ± 0.52	0.02	63.6 %
PFTeDA	0.09 ± 0.19	< lod	0.09 ± 0.19	< lod	0.11 ± 0.18	NA	0.10 ± 0.19	0.02	67.4 %
PFHxS	0.02 ± 0.07	< lod	< lod	< lod	NC	NC	NC	NC	93.0 %
PFHpS	< lod	< lod	< lod	< lod	NC	NC	NC	NC	99.2 %
Br-PFOS	0.13 ± 0.29	< lod	0.12 ± 0.29	< lod	0.16 ± 0.28	NA	0.14 ± 0.28	0.06	58.9 %
L-PFOS	0.71 ± 2.0	0.15	0.71 ± 2.0	0.15	0.72 ± 2.0	0.15	0.72 ± 2.0	0.15	25.6 %
PFDS	< lod	< lod	< lod	< lod	NC	NC	NC	NC	98.5 %
MeFOSAA	0.12 ± 0.66	< lod	0.11 ± 0.66	< lod	0.14 ± 0.67	NA	0.12 ± 0.66	< lod	77.5 %
EtFOSAA	0.06 ± 0.26	< lod	0.06 ± 0.26	< lod	NC	NC	NC	NC	90.0 %
FOSA	0.03 ± 0.09	0.01	0.03 ± 0.09	0.01	0.03 ± 0.09	0.01	0.03 ± 0.09	0.01	32.6 %
MeFOSA	< lod	< lod	< lod	< lod	NC	NC	NC	NC	98.5 %
EtFOSA	< lod	< lod	< lod	< lod	NC	NC	NC	NC	96.1 %
ΣPFASs	2.07 ± 3.42	0.78	1.77 ± 3.47	0.48					

Abundance profile (1)

Table S10. Mean abundance profile in the dissolved phase (% Σ PFASs). Results are given as mean (%) \pm standard deviation. Samples in which no PFASs were detected at all were not considered for calculation.

Statistical treatment	Substitution by 0,5 x LOD	Substitution by 0 x LOD
n	318	318
PFBA	6.8 \pm 7.8	7.2 \pm 14.7
PFPeA	9.0 \pm 6.8	6.8 \pm 9.7
PFHxA	11.6 \pm 9.7	11.9 \pm 11.9
PFHpA	5.0 \pm 3.8	5.1 \pm 5.3
PFOA	11.6 \pm 6.5	13.2 \pm 10.5
PFNA	2.9 \pm 3.9	3.2 \pm 7.3
PFDA	2.5 \pm 2.7	2.2 \pm 4.9
PFUnA	0.8 \pm 1.1	0.2 \pm 1.2
PFDoA	1.0 \pm 1.2	0.03 \pm 0.2
PFTTrDA	0.3 \pm 0.3	0.01 \pm 0.07
PFTeDA	0.9 \pm 1.2	0
PFBS	5.2 \pm 6.8	5.8 \pm 9.3
PFHxS	10.0 \pm 6.6	11.3 \pm 9.3
PFHpS	0.7 \pm 0.6	0.4 \pm 0.7
Br-PFOS	12.3 \pm 6.4	14.7 \pm 10.2
L-PFOS	12.2 \pm 7.3	14.3 \pm 12.6
PFDS	0.5 \pm 0.7	0.02 \pm 0.2
FOSA	0.9 \pm 1.0	0.1 \pm 0.4
MeFOSA	1.3 \pm 1.6	0.07 \pm 0.8
EtFOSA	0.9 \pm 1.3	0.08 \pm 1
6:2 FTSA	4.5 \pm 7.8	4.2 \pm 8.4

Abundance profile (2)

Table S11. Mean abundance profile in the sediment (% ΣPFASs). Results are given as mean (%) ± standard deviation. Samples in which no PFAS was detected at all were not considered for calculation.

Statistical treatment	Substitution by 0,5 x LOD	Substitution by 0 x LOD
n	117	117
PFHpA	8.0 ± 5.6	1.2 ± 5.6
PFOA	7.7 ± 5.3	1.7 ± 7.8
PFNA	5.2 ± 7.2	7.9 ± 22.0
PFDA	6.4 ± 4.0	6.5 ± 12.5
PFUnA	4.6 ± 5.8	7.2 ± 13.1
PFDoA	8.9 ± 6.7	8.3 ± 14.2
PFTTrDA	4.3 ± 6.4	5.1 ± 12.1
PFTeDA	3.8 ± 4.6	3.9 ± 10.7
PFHxS	1.4 ± 1.0	0.2 ± 1.0
PFHpS	1.9 ± 1.3	0.01 ± 0.1
Br-PFOS	5.9 ± 3.9	5.6 ± 11.6
L-PFOS	24.0 ± 17.6	41.1 ± 29.7
PFDS	11.2 ± 7.7	0.01 ± 0.1
MeFOSAA	3.0 ± 7.4	2.8 ± 8.5
EtFOSAA	1.6 ± 3.4	1.8 ± 9.8
FOSA	1.4 ± 1.2	5.6 ± 18.1
MeFOSA	0.6 ± 0.4	0.02 ± 0.1
EtFOSA	0.1 ± 0.2	0.9 ± 9.2

Neural networks (1)

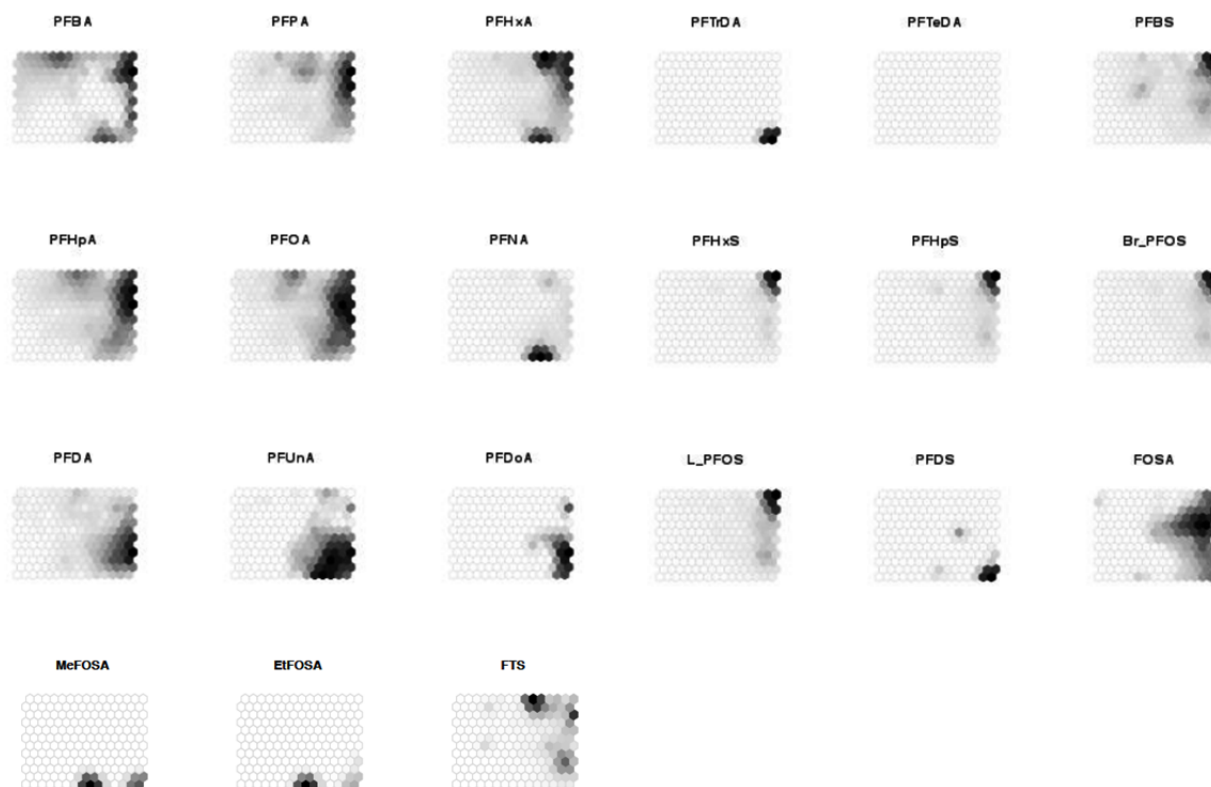


Fig.S3. Component planes corresponding to the Kohonen self-organizing map displayed in **Fig.3**.

Neural networks (2)

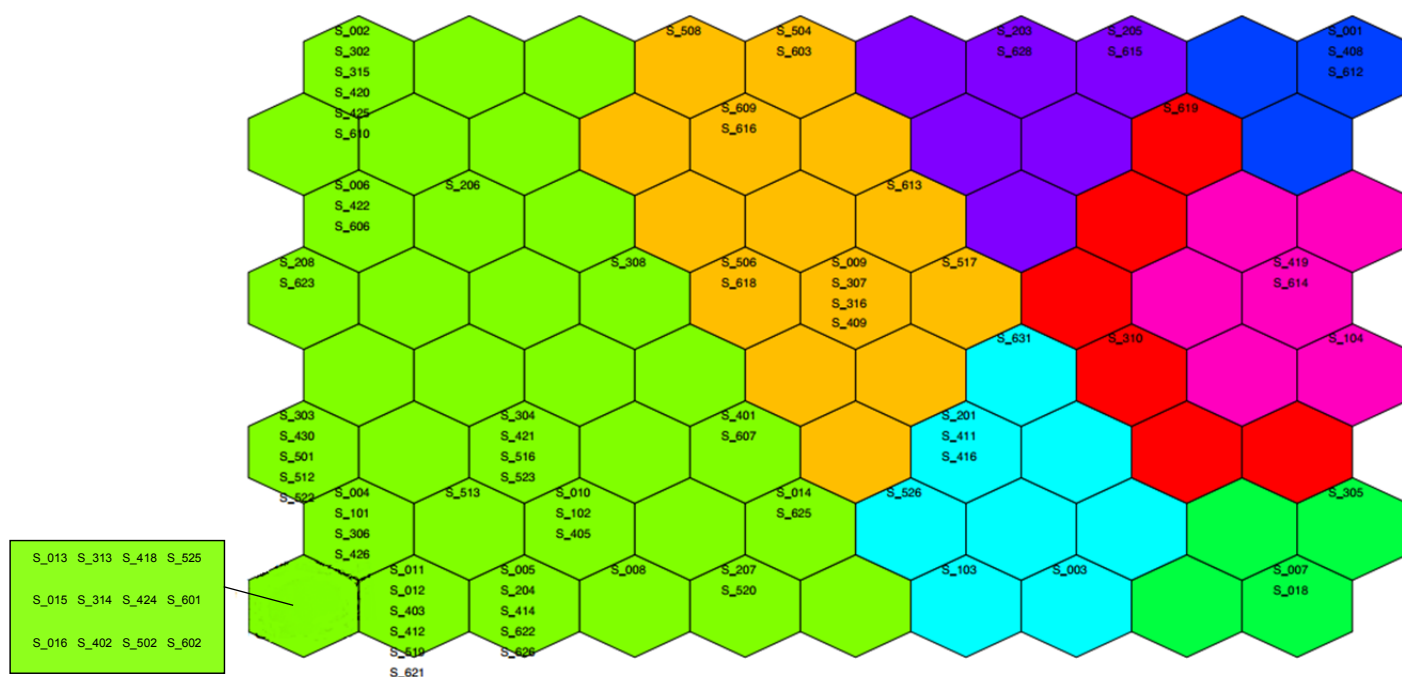


Fig.S4. Similarities between sediment samples (n=129) analyzed by a Kohonen self-organizing map combined with k-means clustering.

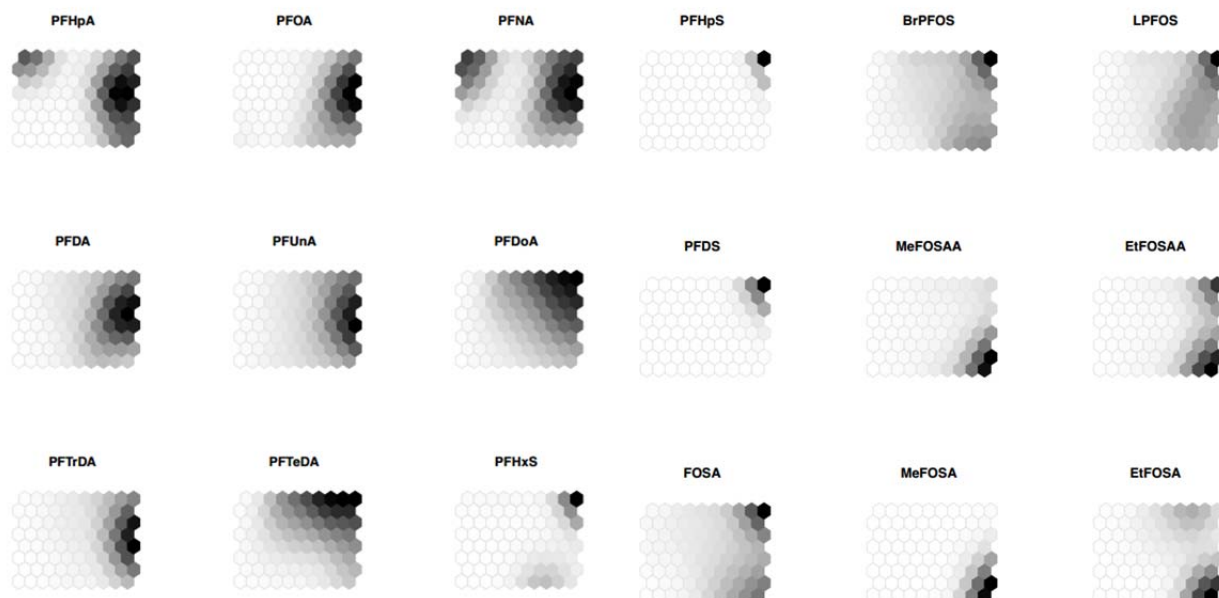


Fig.S5. Component planes corresponding to the Kohonen self-organizing map displayed in **Fig.S4**.

Correlations (1)

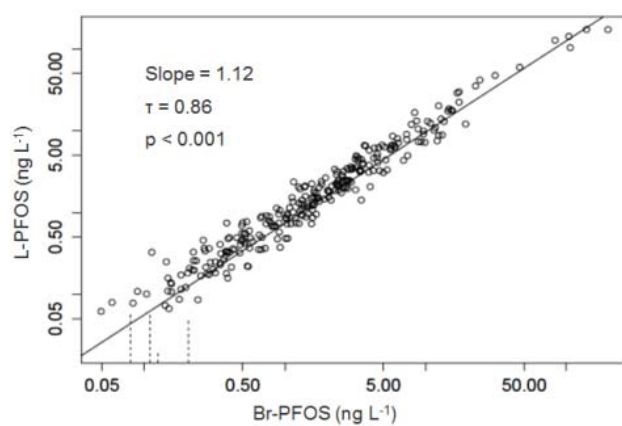


Fig.S6. Correlation between L-PFOS and Br-PFOS in the dissolved phase (n = 333), obtained with a *cenken* regression from the NADA R-package.

Correlations (2)

Table S12. Correlation matrix between PFAS congeners in rivers (dissolved phase, n = 315), presenting the nonparametric correlation coefficient Kendall's tau. Crosses (X) indicate non-significant correlation ($p > 0.05$).

	PFBA	PFPeA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFBS	PFHxS	PFHpS	Br-PFOS	L-PFOS	FOSA	6:2 FTSA
PFBA	-													
PFPeA	0.24	-												
PFHxA	0.29	0.61	-											
PFHpA	0.23	0.63	0.70	-										
PFOA	0.22	0.56	0.70	0.74	-									
PFNA	0.15	0.45	0.58	0.59	0.66	-								
PFDA	X	0.39	0.44	0.49	0.53	0.56	-							
PFBS	0.18	0.43	0.49	0.52	0.54	0.42	0.37	-						
PFHxS	0.22	0.55	0.63	0.63	0.69	0.51	0.44	0.60	-					
PFHpS	0.13	0.40	0.45	0.48	0.49	0.41	0.38	0.45	0.54	-				
Br-PFOS	0.20	0.55	0.65	0.66	0.72	0.55	0.47	0.60	0.82	0.58	-			
L-PFOS	0.19	0.54	0.63	0.65	0.71	0.56	0.49	0.56	0.77	0.56	0.86	-		
FOSA	X	0.21	0.25	0.25	0.27	0.23	0.23	0.21	0.26	0.24	0.28	0.29	-	
6:2 FTSA	0.14	0.41	0.49	0.50	0.48	0.43	0.39	0.41	0.49	0.48	0.54	0.56	0.25	-

Correlations (3)

Table S13. Correlation matrix between PFAS congeners in riverine sediments (n = 111), presenting the nonparametric correlation coefficient Kendall's tau. Crosses (X) indicate non-significant correlation ($p > 0.05$).

	PFNA	PFDA	PFUnA	PFDoA	PFTTrDA	PFTeDA	Br-PFOS	L-PFOS	MeFOSAA	FOSA
PFNA	-									
PFDA	0.13	-								
PFUnA	0.16	0.45	-							
PFDoA	0.10	0.43	0.45	-						
PFTTrDA	0.09	0.38	0.43	0.44	-					
PFTeDA	X	0.35	0.38	0.50	0.36	-				
Br-PFOS	X	0.39	0.36	0.42	0.32	0.38	-			
L-PFOS	0.12	0.46	0.43	0.44	0.36	0.37	0.52	-		
MeFOSAA	X	0.20	0.21	0.22	0.18	0.19	0.23	0.24	-	
FOSA	X	0.45	0.44	0.45	0.40	0.40	0.47	0.59	0.25	-

Correlations (4)

Table S14. Correlations between levels in the sediment and f_{OC} (n=127) performed with a *cenken* regression. Numbers in green indicate statistical significance ($p < 0.05$).

Compound	Model significance?	Kendall's τ Correl. Coeff.	Slope	Intercept
PFNA	N ($p=0.97$)			
PFDA	Y ($p=0.04$)	0.11	1.614	-0.007
PFUnA	Y ($p=0.04$)	0.11	2.321	-0.011
PFDoA	N ($p=0.09$)			
PFTTrDA	Y ($p=0.01$)	0.13	2.340	-0.045
PFTeDA	N ($p=0.07$)			
Br-PFOS	Y ($p=8 \cdot 10^{-4}$)	0.18	3.806	-0.045
L-PFOS	Y ($p=5 \cdot 10^{-5}$)	0.24	7.863	0.019
FOSA	Y ($p=4 \cdot 10^{-6}$)	0.27	0.488	-0.002
MeFOSAA	N ($p=0.16$)			

Table S15. Correlations between levels in the sediment and the fine fraction (n=126) performed with a *cenken* regression. Numbers in green indicate statistical significance ($p < 0.05$).

Compound	Model significance?	Kendall's τ Correl. Coeff.	Slope	Intercept
PFNA	N ($p=0.34$)			
PFDA	Y ($p=0.005$)	0.16	0.296	-0.014
PFUnA	Y ($p=0.04$)	0.11	0.281	-0.011
PFDoA	N ($p=0.07$)			
PFTTrDA	Y ($p=0.01$)	0.12	0.312	-0.025
PFTeDA	N ($p=0.33$)			
Br-PFOS	Y ($p=0.02$)	0.12	0.374	-0.022
L-PFOS	Y ($p=0.0001$)	0.23	0.815	0.0005
FOSA	Y ($p=0.0005$)	0.21	0.045	-0.0004
MeFOSAA	Y ($p=0.03$)	0.09	0.504	-0.07

Multiple regression

Table S16. Multiple regression results investigating the combined influence of carbon organic content and grain size on PFAS concentrations in the sediment (n=126). The model for PFAS levels in the sediment (Y) were obtained with the *cenreg* function of the NADA R-package, leading to the model $\ln(1 + Y) = \alpha + \beta \cdot X_1 + \gamma \cdot X_2$, where X_1 is the f_{oc} and X_2 is the silt content (both X_1 and X_2 were centered and reduced). Numbers in green indicate statistical significance ($p < 0.05$).

Compound	Model significance?	Loglik-R Correl. Coeff.	α (p-value)	β (p-value)	γ (p-value)
PFNA	N (p=0.23)				
PFDA	N (p=0.25)				
PFUnA	N (p=0.45)				
PFDoA	N (p=0.32)				
PFTTrDA	N (p=0.16)				
PFTeDA	N (p=0.60)				
Br-PFOS	Y (p=0.016)	0.252	-0.0979 (0.018)	0.0740 (0.032)	0.0368 (0.30)
L-PFOS	Y (p=0.01)	0.267	0.2277 (3.2 10 ⁻⁵)	0.1227 (0.033)	0.0718 (0.22)
FOSA	Y (p=0.0008)	0.328	0.0063 (0.043)	0.0237 (0.003)	0.0095 (0.025)
MeFOSAA	N (p=0.11)				

Table S17. Multiple regression results investigating the combined influence of carbon organic content, grain size and PFAS concentrations in the dissolved phase on PFAS concentrations in the sediment (n=318). The model for PFAS levels in the sediment (Y) were obtained with the *cenreg* function of the NADA R-package, leading to the model $\ln(1 + Y) = \alpha + \beta \cdot X_1 + \gamma \cdot X_2 + \delta \cdot X_3$, where X_1 is the f_{oc} , X_2 is the silt content and X_3 is the concentration in the dissolved phase (note that X_1 , X_2 and X_3 were all centered and reduced). Numbers in green indicate statistical significance ($p < 0.05$).

Compound	Model significance?	Loglik-R Correl. Coeff.	α (p-value)	β (p-value)	γ (p-value)	δ (p-value)
PFNA	N (p=0.06)					
PFDA	Y (p=0.0002)	0.241	-0.0598 (0.02)	0.0108 (0.06)	0.0649 (0.008)	0.0595 (0.001)
Br-PFOS	Y (p=1.9 10 ⁻⁵)	0.273	-0.0777 (8.4 10 ⁻⁴)	0.0463 (0.02)	0.0520 (0.02)	0.0526 (0.001)
L-PFOS	Y (p=0.0003)	0.241	0.2375 (1 10 ⁻¹²)	0.0885 (0.01)	0.0869 (0.03)	0.0593 (0.06)
FOSA	Y (p=2.9 10 ⁻¹¹)	0.389	0.0094 (0.02)	0.0196 (2 10 ⁻⁵)	0.0096 (0.04)	0.0177 (2 10 ⁻⁵)

ANNEXES DU CHAPITRE IV.2

Occurrence et devenir des PFAS dans les eaux souterraines, les eaux de surface et les sédiments en zone tropicale – Application aux départements français d’Outre-Mer

Electronic Supporting Information

Occurrence and fate of poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) in groundwater, surface water, and sediments from tropical environments: a case-study in Overseas France

Gabriel Munoz^a, Pierre Labadie^b, Fabrizio Botta^c, François Lestremat^c, Benjamin Lopez^d, Emmanuel Geneste^a, Patrick Pardon^a, Marie-Hélène Dévier^a and Hélène Budzinski^{b,*}

^a: Université de Bordeaux, EPOC, UMR 5805, LPTC, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France.

^b: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France.

^c: INERIS, Parc Technologique Alata, BP2, 60550 Verneuil-en-Halatte, France.

^d: BRGM, 3 avenue Claude Guillemin, BP 36009, 45060 Orléans Cedex 2, France.

*Corresponding author. Contact: helene.budzinski@u-bordeaux.fr

Sampling sites (1/3)

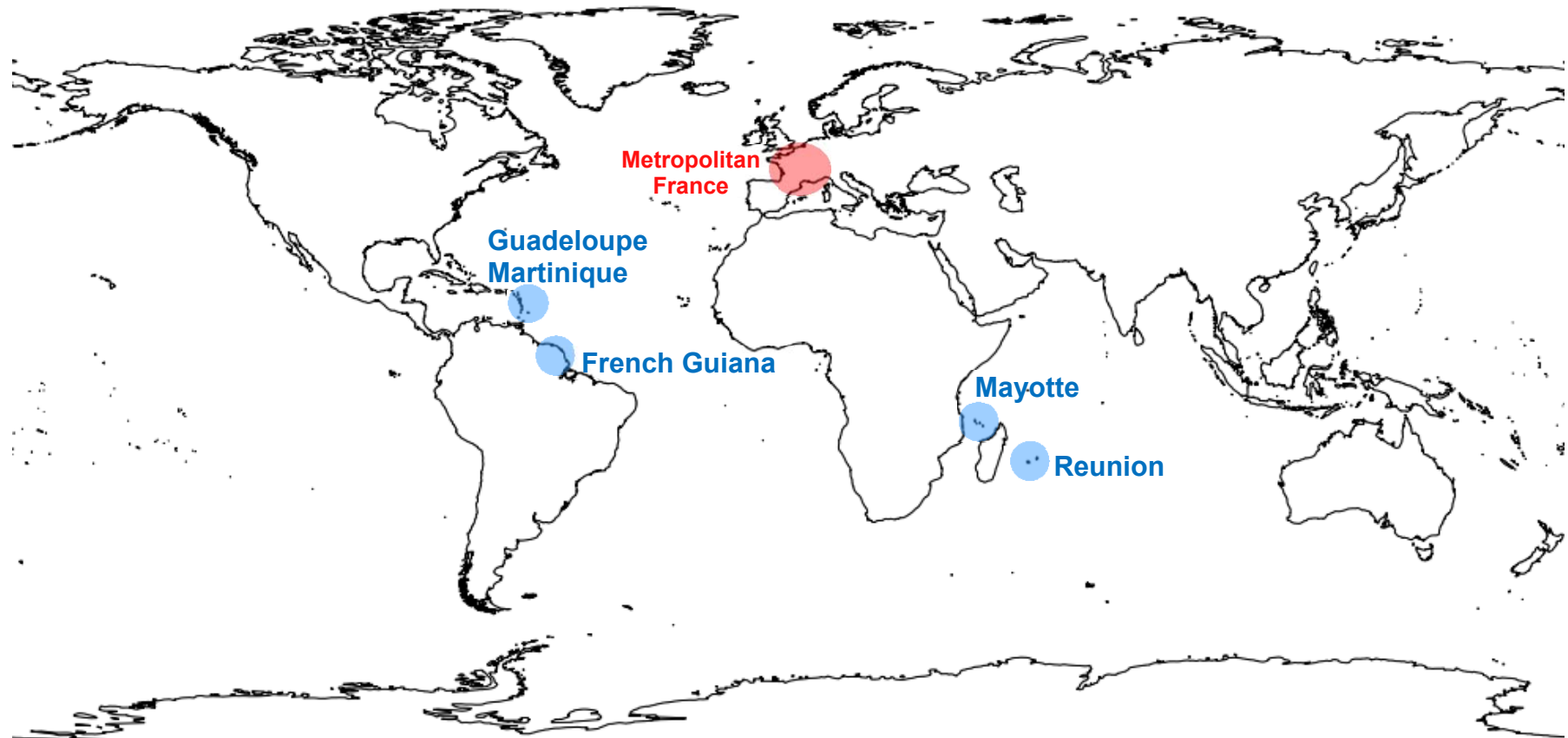


Fig.S1. General location of the five sampling areas in blue (French Overseas Departments). Location of Metropolitan France is indicated in red.

Sampling sites (2/3)

Table S1. List of surface water sampling sites.

Station Code	Number of sampling campaigns (dissolved phase)	Number of sampling campaigns (sediment)	Overseas Department	Station Name
SW_Gua01	3	1	Guadeloupe	Ravine des Coudes
SW_Gua02	3	1	Guadeloupe	Grande Rivière à Goyaves
SW_Gua03	3	1	Guadeloupe	Petite Rivière à Goyave
SW_Gua04	3	1	Guadeloupe	Rivière aux Herbes
SW_Gua05	3	1	Guadeloupe	Rivière Grande Anse
SW_Guy01	3	1	French Guiana	Malmanoury
SW_Guy02	3	1	French Guiana	Canal Laussat
SW_Guy03	3	1	French Guiana	Crique Fouillée
SW_Guy04	3	1	French Guiana	Crique Paddock Vampire
SW_Guy05	3	1	French Guiana	Lac du Bois de Chaudat
SW_Mar01	3	1	Martinique	Lézarde
SW_Mar02	3	1	Martinique	Jambette
SW_Mar03	3	1	Martinique	Monsieur
SW_Mar04	3	1	Martinique	Capot
SW_Mar05	3	1	Martinique	Pocquet
SW_May01	3	0	Mayotte	Ourouveni
SW_May02	3	0	Mayotte	Kwalé
SW_May03	3	0	Mayotte	Dembeni
SW_May04	3	0	Mayotte	Bouyouni
SW_May05	3	0	Mayotte	Majimbini
SW_Reu01	3	0	Reunion	Grande Rivière Saint-Jean
SW_Reu02	3	0	Reunion	Ravine Saint Gilles
SW_Reu03	3	0	Reunion	Rivière Saint Etienne
SW_Reu04	3	0	Reunion	Rivière du Mât
SW_Reu07	3	0	Reunion	Rivière Sainte Suzanne

Sampling sites (3/3)

Table S2. List of groundwater sampling sites.

Station Code	Number of sampling campaigns	Overseas Department	Station Name
GW_Gua01	2	Guadeloupe	Duchassaing
GW_Gua02	2	Guadeloupe	Power Plant
GW_Gua03	2	Guadeloupe	Belle Terre
GW_Gua04	2	Guadeloupe	Audouin
GW_Gua05	2	Guadeloupe	Sainte Rose
GW_Gua06	2	Guadeloupe	Jabrun
GW_Gua07	2	Guadeloupe	Source 2
GW_Gua08	2	Guadeloupe	Etang Noir
GW_Gua09	2	Guadeloupe	La Plaine
GW_Gua10	2	Guadeloupe	Petit Canal
GW_Guy01	2	French Guiana	Grand Santi
GW_Guy02	2	French Guiana	AEP Maripasoula
GW_Guy03	2	French Guiana	PMH Sparouine
GW_Guy04	2	French Guiana	PMH Apaguy
GW_Guy05	2	French Guiana	AEP Camopi
GW_Guy06	2	French Guiana	Acarouany
GW_Guy07	2	French Guiana	Vieux Chemin
GW_Guy08	2	French Guiana	Cayenne
GW_Guy09	2	French Guiana	Composting Facility
GW_Guy10	2	French Guiana	Oil refinery
GW_Mar01	2	Martinique	Oil refinery
GW_Mar02	2	Martinique	Lamentin Place d'Armes
GW_Mar03	2	Martinique	La Meynard
GW_Mar04	2	Martinique	Case Navire
GW_Mar05	2	Martinique	Fougainville
GW_Mar06	2	Martinique	Habitation Victoire
GW_Mar07	2	Martinique	Chalvet
GW_Mar08	2	Martinique	Chez Lelene
GW_Mar09	2	Martinique	Morne Pitault
GW_May01	2	Mayotte	Kaweni F1
GW_May02	2	Mayotte	Kaweni 3 10"
GW_May03	2	Mayotte	Tsararano 1
GW_Reu01	2	Reunion	Puits Ravine
GW_Reu02	2	Reunion	F5 La Salette
GW_Reu03	2	Reunion	Source Fargeau
GW_Reu04	2	Reunion	Power Plant
GW_Reu05	2	Reunion	AEP
GW_Reu06	2	Reunion	ZEC Chaudron
GW_Reu07	2	Reunion	Source Baroi
GW_Reu08	2	Reunion	Bretagne Domenjod

PFAS stability test

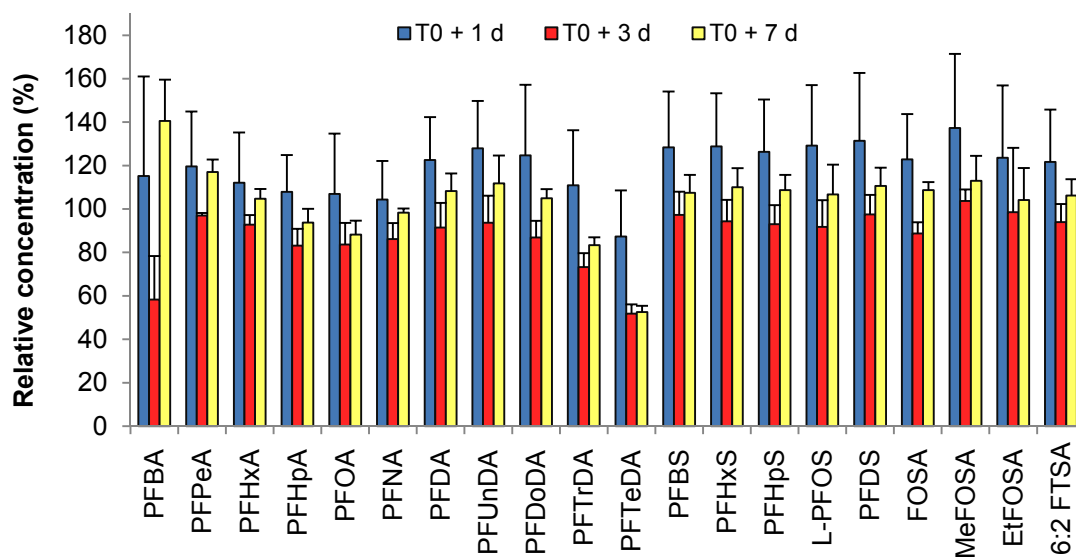


Fig.S2. Stability test results. A real-matrix GFF-filtered water sample was spiked at 10 ng L⁻¹ at T₀ and stored in a cold room (4 °C) for up to 7 days.

Correlations

Table S3. Correlation matrix between PFAS congeners in surface waters (n = 75), presenting the nonparametric correlation coefficient Kendall's tau. Struck through numbers correspond to non-significant correlation ($p > 0.05$).

	PFBA	PFPeA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFDA	PFBS	PFHxS	Br-PFOS	L-PFOS	FOSA	6:2 FTSA	ΣPFASs
PFBA	-												
PFPeA	0.26	-											
PFHxA	0.28	0.33	-										
PFHpA	0.23	0.30	0.49	-									
PFOA	0.25	0.33	0.51	0.50	-								
PFDA	0.11	0.13	0.17	0.13	0.21	-							
PFBS	0.15	0.27	0.42	0.35	0.56	0.22	-						
PFHxS	0.14	0.34	0.41	0.44	0.58	0.19	0.53	-					
Br-PFOS	0.17	0.34	0.42	0.45	0.61	0.24	0.54	0.60	-				
L-PFOS	0.13	0.31	0.36	0.41	0.59	0.24	0.49	0.57	0.77	-			
FOSA	0.04	0.13	0.12	0.11	0.15	0.14	0.14	0.16	0.16	0.16	-		
6:2 FTS	0.12	0.19	0.14	0.15	0.20	0.20	0.17	0.21	0.29	0.30	0.12	-	
ΣPFASs	0.34	0.45	0.51	0.53	0.68	0.22	0.55	0.59	0.70	0.67	0.15	0.26	-

Table S4. Correlation matrix between PFAS congeners in groundwater (n = 80), presenting the nonparametric correlation coefficient Kendall's tau.

	PFBA	PFPeA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFBS	PFHxS	Br-PFOS	L-PFOS	ΣPFASs
PFBA	-									
PFPeA	0.48	-								
PFHxA	0.47	0.52	-							
PFHpA	0.42	0.49	0.52	-						
PFOA	0.40	0.43	0.53	0.47	-					
PFBS	0.20	0.25	0.30	0.31	0.36	-				
PFHxS	0.30	0.34	0.40	0.36	0.45	0.51	-			
Br-PFOS	0.30	0.33	0.35	0.35	0.40	0.43	0.50	-		
L-PFOS	0.25	0.28	0.32	0.31	0.37	0.40	0.48	0.54	-	
ΣPFASs	0.49	0.52	0.59	0.54	0.56	0.50	0.56	0.52	0.49	-

ANNEXES DU CHAPITRE IV.3

Cartographie des PFAS dans la colonne d'eau et le sédiment sur un gradient de salinité et de turbidité dans un estuaire macrotidal et étude des facteurs de contrôle de leur devenir environnemental

Electronic Supporting Information

Factors influencing the water-suspended sediment partitioning and the sediment levels of poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) along the salinity/turbidity gradient of a macrotidal estuary

Gabriel Munoz^a, H       Budzinski^b and Pierre Labadie^{b,*}

^a: University of Bordeaux, UMR 5805 EPOC, LPTC Research Group, 33405 Talence, France.

^b: CNRS, UMR 5805 EPOC, LPTC Research Group, 33405 Talence, France.

*Corresponding author.

Contact: pierre.labadie@u-bordeaux.fr

Table of Contents

Chemicals and Materials.....	p 554
------------------------------	-------

Figures

General setting of the Gironde estuary.....	p 555
Sampling strategy.....	p 555
Evolution of water physico-chemical parameters along the longitudinal gradient.....	p 556
Relationship between the SPM load and particulate organic carbon.....	p 557
Evolution of the short-chain to long-chain PFCA ratio across intertidal mudflats.....	p 557
PFAS levels in the water column Vs salinity: illustration for Σ PFASs	p 558
K_D model validation illustrated for L-PFOS, PFOA and PFHxS.....	p 559

Tables

List of PFAS investigated in the present study.....	p 560
GPS coordinates of the 34 sampling sites.....	p 561
PFAS levels in procedural blanks.....	p 562
Limits of detection.....	p 563
Recovery rates.....	p 564
Accuracy rates.....	p 565
List of internal standards.....	p 566
Mass spectrometry acquisition parameters.....	p 567
PFAS occurrence and levels in water and sediment samples.....	p 568
K_D and Particle-Concentration effect (PCE): regression results.....	p 569
Modeling of K_D : combined influence of PCE and salting-out.....	p 570
Correlation matrix between sediment quality parameters.....	p 571
PFAS levels in sediments and f_{OC} : correlation results	p 571
PFAS levels in sediments and black carbon content: correlation results	p 572
Controlling factors of PFAS sediment levels: multiple regression results.....	p 573

Chemicals and Materials

HPLC-grade ethanol methanol (MeOH) and acetonitrile (ACN) were from J.T. Baker (Atlantic Labo, Bruges, France). Ultrapure water was obtained using a Millipore Elix 10 system fitted with an EDS Pak polisher. Nitrogen gas (99.999 %) was from Linde (St Priest, France). Strata X-AW cartridges (200 mg/6 mL) were supplied by Phenomenex (Le Pecq, France). Supelclean ENVI-Carb cartridges (250 mg/6 mL), ammonium hydroxide (NH₄OH) (28.0-30.0 % NH₃ basis) and ammonium acetate (CH₃COONH₄) (Fluka) for HPLC (≥ 99.0 %) were obtained from Sigma-Aldrich (St Quentin Fallavier, France).

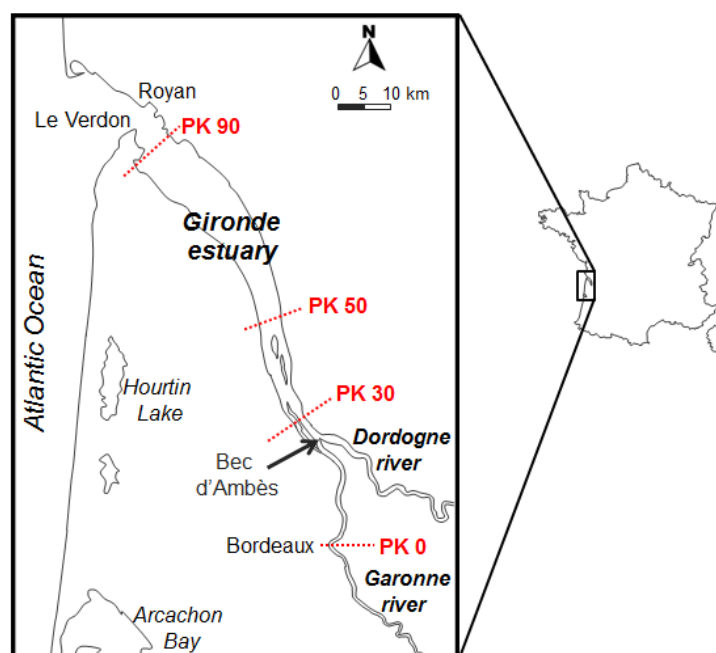


Fig.S1. General setting of the Gironde estuary.

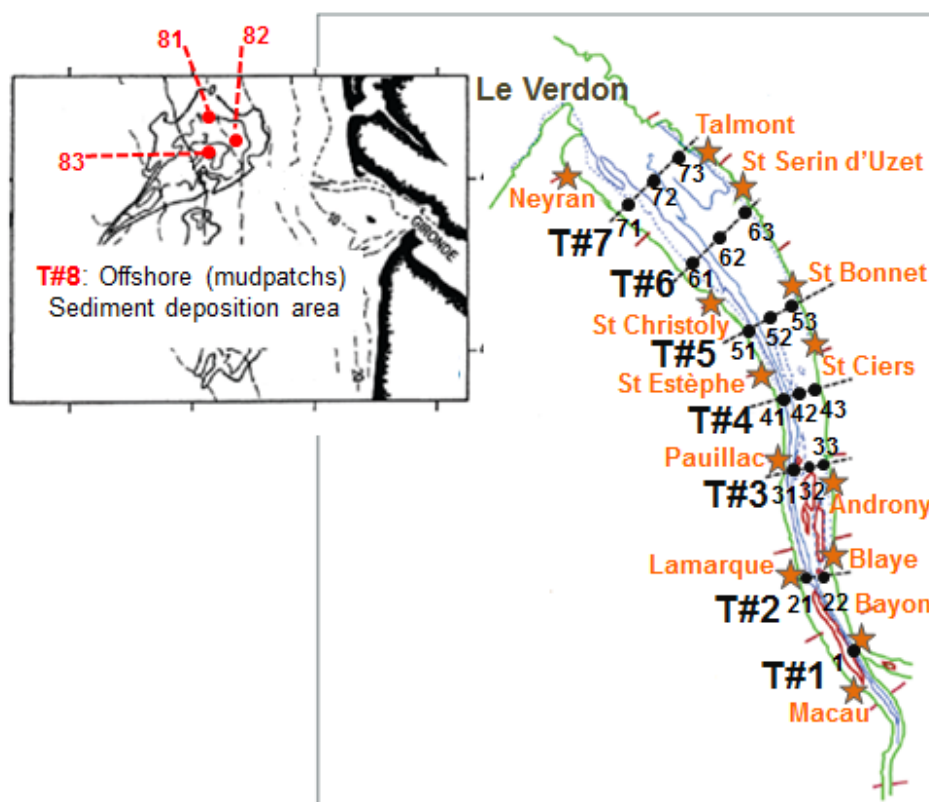


Fig.S2. Sampling strategy along the longitudinal gradient: intra-estuary subtidal transects (T#1–T#7) (black), intertidal mudflats (orange), and offshore samples (T#8) (red). GPS coordinates of the 34 sampling sites are provided in **Table S2** of the SI.

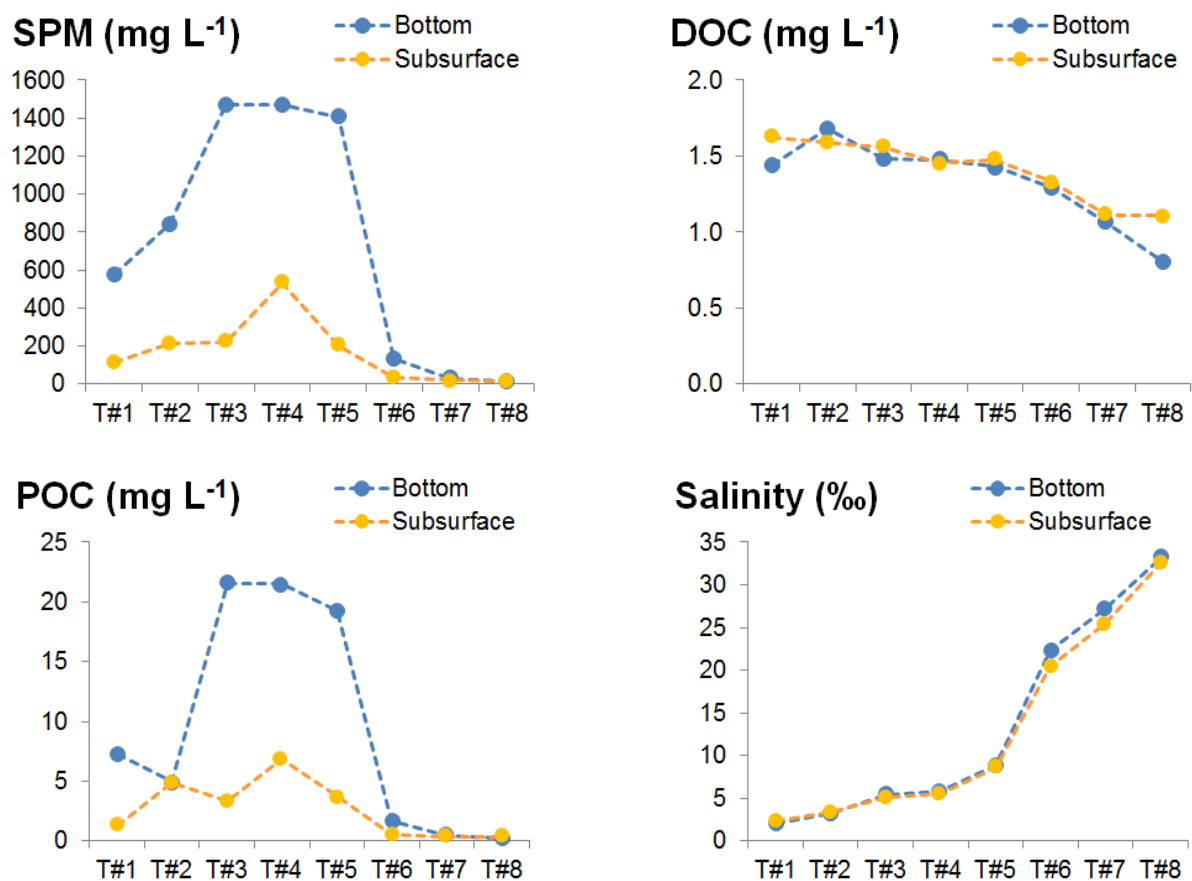


Fig.S3. Evolution of water physico-chemical parameters along the longitudinal gradient: suspended solid concentration (SPM, mg L⁻¹), particulate organic carbon (POC, mg L⁻¹), dissolved organic carbon (DOC, mg L⁻¹) and salinity (‰) in bottom (blue) and subsurface (yellow) water samples (mean from 1–3 samples collected at each transect site T#1 to T#8).

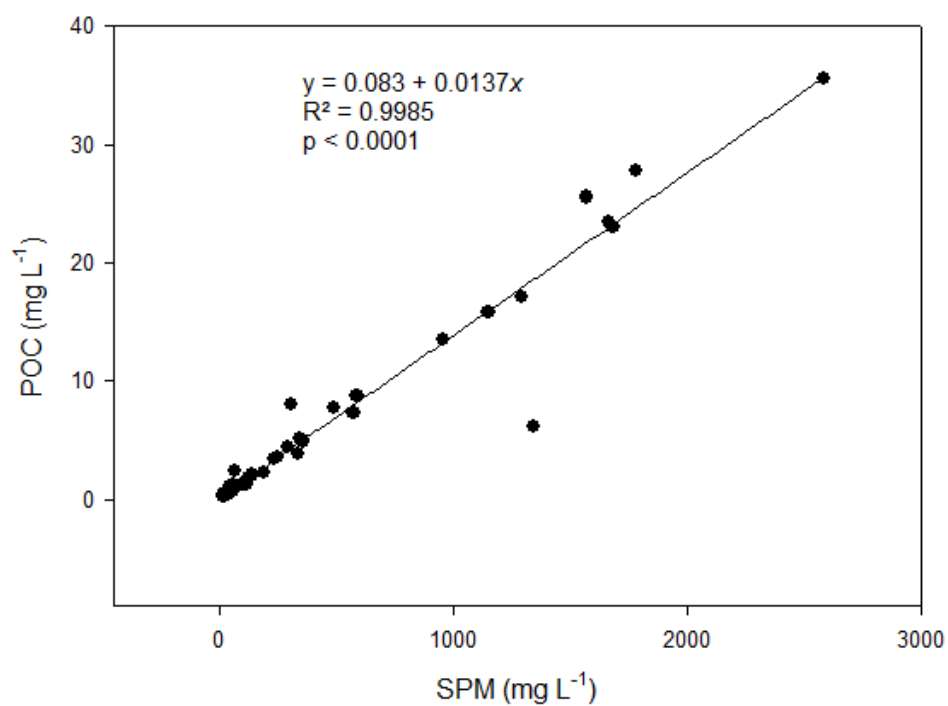


Fig.S4. Relationship between the suspended solid load (SPM) and particulate organic carbon content (POC).

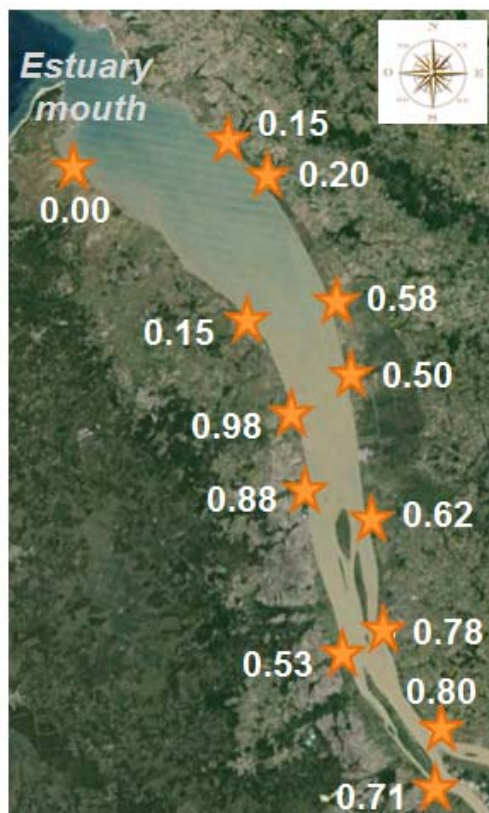


Fig.S5. Evolution of the C₄–C₆ to C₉–C₁₃ PFCA ratio (ΣC_4-C_6 PFCAs / ΣC_9-C_{13} PFCAs) across intertidal mudflats from the Gironde estuary.

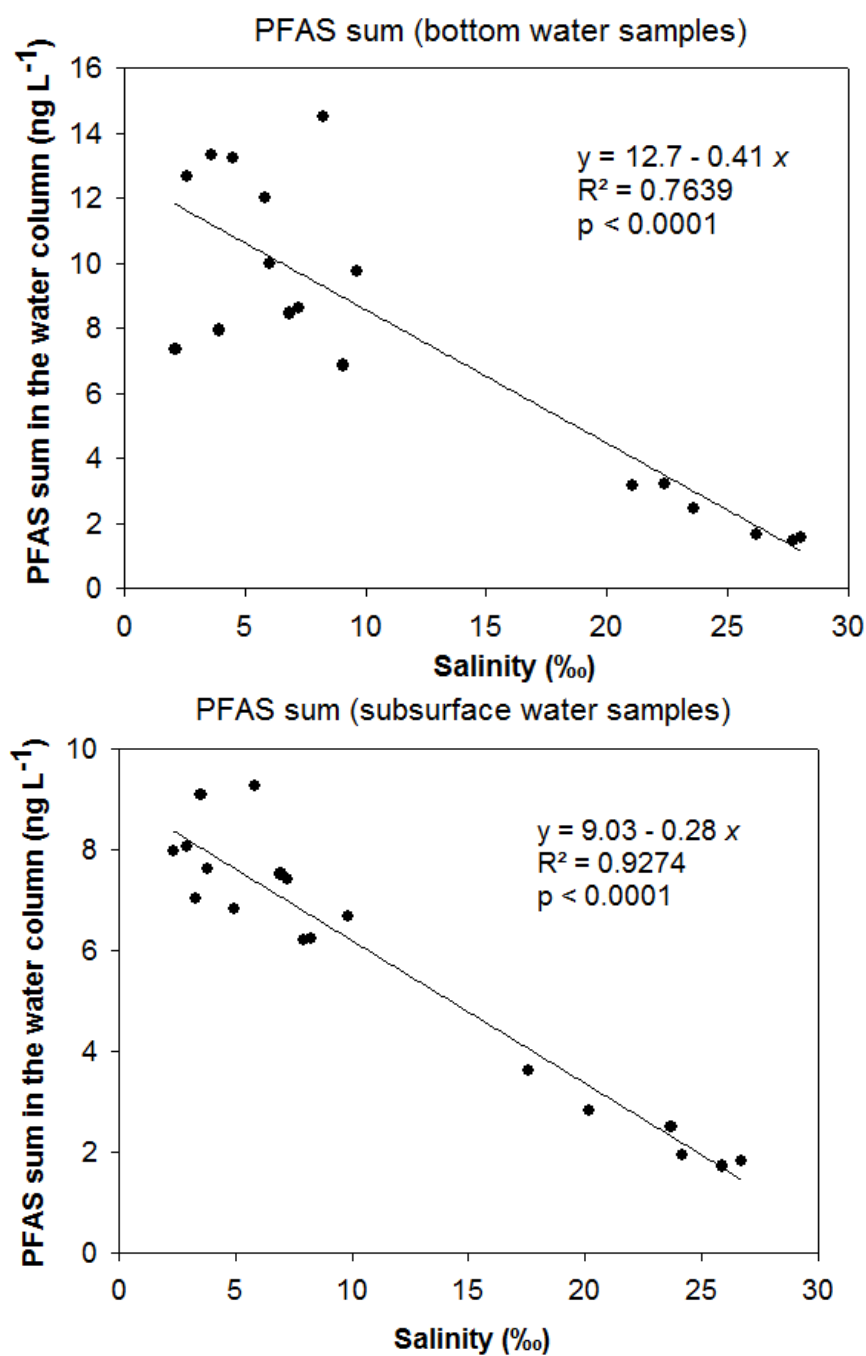


Fig.S6. PFAS levels in the water column Vs salinity: illustration provided for Σ PFASs for subsurface (left) and bottom (right) water samples. Note that only samples from transects T#1 to T#7 were considered.

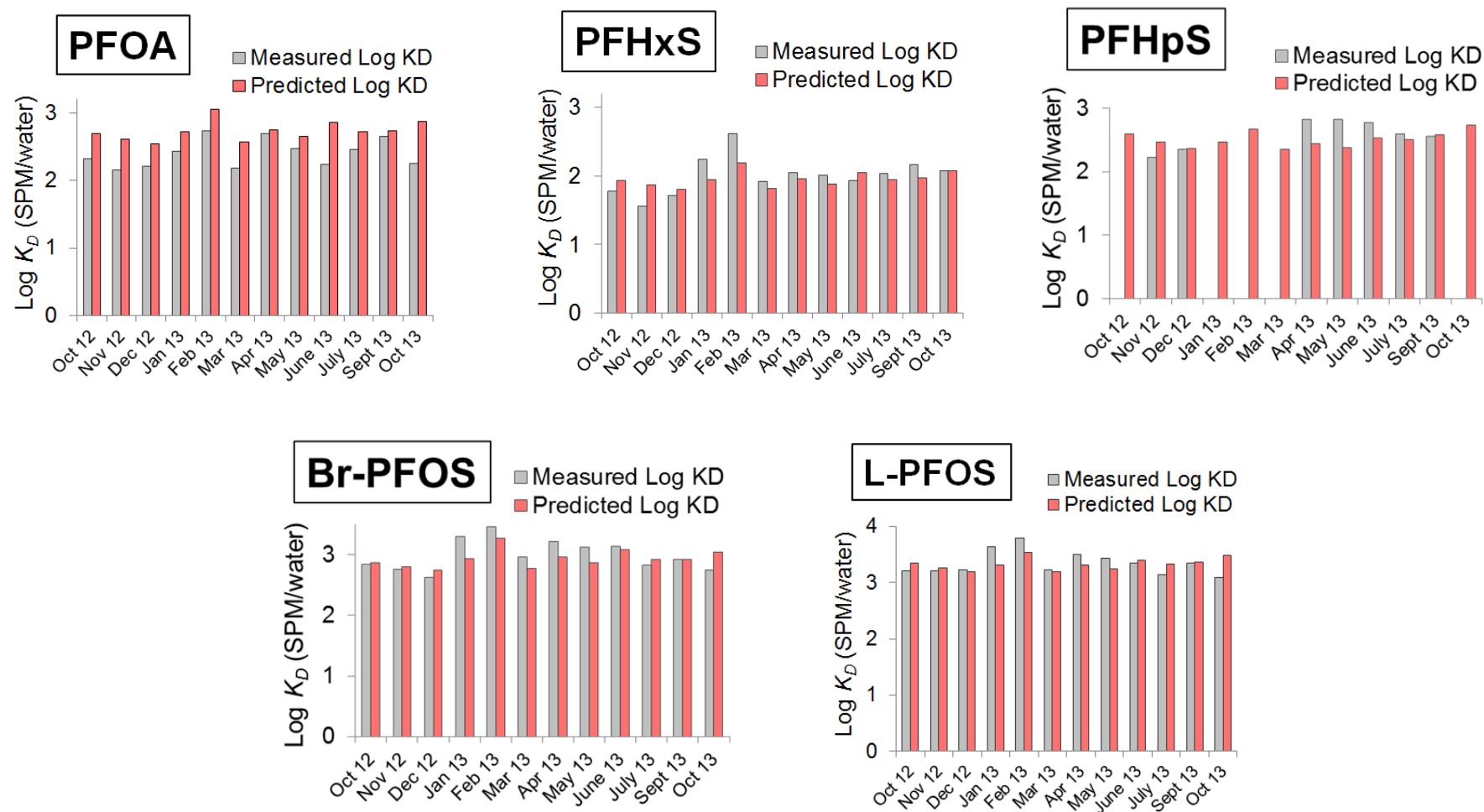


Fig.S7. K_D model validation illustrated in the case of L-PFOS, PFOA and PFHxS. Measured Log K_D values at Pauillac (2012/2013 temporal survey) are shown in grey bars. The model yielded in **Table S11** of the SI was used to predict Log K_D values (red bars), using measurements of suspended-particle loads and salinity at Pauillac sampling station for the days of sampling (2012/2013 survey). Note that in the case of PFHpS, K_D measurements from the 2012/2013 Pauillac temporal survey were missing for 5/12 sampling dates (not available: Oct 12, Jan 13, Feb 13, Mar 13 and Oct 13).

Table S1. List of PFAS compounds targeted in the present study.

<i>Acronym</i>	Compound name	Molecular formula	CAS
PFBA	perfluoro-n-butanoic acid	C ₃ F ₇ COOH	375-22-4
PFPeA	perfluoro-n-pentanoic acid	C ₄ F ₉ COOH	2706-90-3
PFHxA	perfluoro-n-hexanoic acid	C ₅ F ₁₁ COOH	307-24-4
PFHpA	perfluoro-n-heptanoic acid	C ₆ F ₁₃ COOH	375-85-9
PFOA	perfluoro-n-octanoic acid	C ₇ F ₁₅ COOH	335-67-1
PFNA	perfluoro-n-nonanoic acid	C ₈ F ₁₇ COOH	375-95-1
PFDA	perfluoro-n-decanoic acid	C ₉ F ₁₉ COOH	335-76-2
PFUnDA	perfluoro-n-undecanoic acid	C ₁₀ F ₂₁ COOH	2058-94-8
PFDoDA	perfluoro-n-dodecanoic acid	C ₁₁ F ₂₃ COOH	307-55-1
PFTrDA	perfluoro-n-tridecanoic acid	C ₁₂ F ₂₅ COOH	72629-94-8
PFTeDA	perfluoro-n-tetradecanoic acid	C ₁₃ F ₂₇ COOH	376-06-7
PFBS	perfluoro-1-butanedisulfonic acid	C ₄ F ₉ SO ₃ H	375-73-5
PFHxS	perfluoro-1-hexanedisulfonic acid	C ₆ F ₁₃ SO ₃ H	355-46-4
PFHpS	perfluoro-1-heptanedisulfonic acid	C ₇ F ₁₅ SO ₃ H	375-92-8
Br-PFOS	(cluster of branched PFOS isomers)	-	-
L-PFOS	n-perfluoro-1-octanedisulfonic acid	C ₈ F ₁₇ SO ₃ H	1763-23-1
PFDS	perfluoro-1-decanedisulfonic acid	C ₁₀ F ₂₁ SO ₃ H	355-77-3
MeFOSAA	2-(N-methylperfluorooctane sulfonamido) acetic acid	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(CH ₃)CH ₂ COOH	NA
EtFOSAA	2-(N-ethylperfluorooctane sulfonamido) acetic acid	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(C ₂ H ₅)CH ₂ COOH	NA
FOSA	perfluorooctane sulfonamide	C ₈ F ₁₇ SO ₂ NH ₂	754-91-6
MeFOSA	N-methyl perfluorooctane sulfonamide	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(CH ₃)H	31506-32-8
EtFOSA	N-ethyl perfluorooctane sulfonamide	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(C ₂ H ₅)H	4151-50-2
4:2 FTSA	1H,1H,2H,2H-perfluorohexane sulfonate	C ₄ F ₉ CH ₂ CH ₂ SO ₃ H	414911-30-1
6:2 FTSA	1H,1H,2H,2H-perfluorooctane sulfonate	C ₆ F ₁₃ CH ₂ CH ₂ SO ₃ H	425670-75-3
8:2 FTSA	1H,1H,2H,2H-perfluorooctane sulfonate	C ₈ F ₁₇ CH ₂ CH ₂ SO ₃ H	481071-78-7
6:2 diPAP	Bis-[1H,1H,2H,2H-perfluorooctyl]phosphate	P(OCH ₂ CH ₂ C ₈ F ₁₇) ₂ O ₂	57677-95-9
8:2 diPAP	Bis-[1H,1H,2H,2H-perfluorodecyl]phosphate	P(OCH ₂ CH ₂ C ₁₀ F ₂₁) ₂ O ₂	678-41-1

Table S2. GPS coordinates (degrees/minutes format) of the 35 sampling sites.

Sampling site	Type	Lat (N)	Lon (W)
#1	Subtidal (intra-estuary)	45°02,701'	0°36.698'
#2/1	Subtidal (intra-estuary)	45°07,650'	0°42.172'
#2/2	Subtidal (intra-estuary)	45°07.400'	0°40.289'
#3/1	Subtidal (intra-estuary)	45°12.116'	0°43.714'
#3/2	Subtidal (intra-estuary)	45°14.730'	0°43,609'
#3/3	Subtidal (intra-estuary)	45°13.243'	0°41.810'
#4/1	Subtidal (intra-estuary)	45°17.051'	0°45.565'
#4/2	Subtidal (intra-estuary)	45°17.189'	0°44.054'
#4/3	Subtidal (intra-estuary)	45°17.351'	0°43.040'
#5/1	Subtidal (intra-estuary)	45°21.786'	0°48.463'
#5/2	Subtidal (intra-estuary)	45°22.582'	0°46.943'
#5/3	Subtidal (intra-estuary)	45°23.094'	0°46.111'
#6/1	Subtidal (intra-estuary)	45°27,215'	0°54.798'
#6/2	Subtidal (intra-estuary)	45°28.341'	0°53.052'
#6/3	Subtidal (intra-estuary)	45°29.401'	0°51.231'
#7/1	Subtidal (intra-estuary)	45°31.457'	1°01.091'
#7/2	Subtidal (intra-estuary)	45°31.562'	1°00.179'
#7/3	Subtidal (intra-estuary)	45°32.656'	0°58.258'
#8/1	Offshore (West Gironde mudpatches)	45°44.617'	1°40.580'
#8/2	Offshore (West Gironde mudpatches)	45°43.637'	1°37.066'
#8/3	Offshore (West Gironde mudpatches)	45°41.179'	1°39.267'
Neyran	Intertidal mudflat (left bank)	45°30.202'	1°03.267'
St Christoly	Intertidal mudflat (left bank)	45°21.623'	0°49.262'
St Estèphe	Intertidal mudflat (left bank)	45°15.813'	0°45.423'
Pauillac	Intertidal mudflat (left bank)	45°11.977'	0°44.650'
Lamarque	Intertidal mudflat (left bank)	45°5.947'	0°41.638'
Macau	Intertidal mudflat (left bank)	45°0.798'	0°36.197'
Talmont s/ Gironde	Intertidal mudflat (right bank)	45°32.080'	0°54.372'
St Serin d'Uzet	Intertidal mudflat (right bank)	45°29.922'	0°50.545'
St Bonnet s/ Gironde	Intertidal mudflat (right bank)	45°19.685'	0°43.017'
St Ciers s/ Gironde	Intertidal mudflat (right bank)	45°17.097'	0°42.167'
Androny	Intertidal mudflat (right bank)	45°11.427'	0°40.658'
Blaye	Intertidal mudflat (right bank)	45°7.498'	0°39.970'
Bayon s/ Gironde	Intertidal mudflat (right bank)	45°3.022'	0°36.338'

Table S3. PFAS levels (ng) in procedural blanks (mean \pm SD).

	Sediment blanks	Water blanks	SPM blanks
<i>n</i>	5	7	4
PFBA	ND*	ND	0.03 \pm 0.03
PFPeA	0.1 \pm 0.007	0.03 \pm 0.003	0.1 \pm 0.01
PFHxA	ND	ND	0.01 \pm 0.03
PFHpA	ND	ND	0.005 \pm 0.01
PFOA	0.01 \pm 0.01	0.004 \pm 0.01	ND
PFNA	ND	ND	ND
PFDA	0.03 \pm 0.003	0.003 \pm 0.006	0.03 \pm 0.003
PFUnDA	0.003 \pm 0.007	ND	0.01 \pm 0.004
PFDoDA	ND	ND	ND
PFTTrDA	ND	ND	ND
PFTeDA	ND	ND	ND
PFBS	ND	0.01 \pm 0.007	ND
PFHxS	ND	0.002 \pm 0.003	ND
PFHpS	ND	ND	ND
Br-PFOS	ND	ND	0.003 \pm 0.002
L-PFOS	ND	0.004 \pm 0.006	ND
PFDS	ND	ND	ND
MeFOSAA	ND	ND	ND
EtFOSAA	ND	ND	ND
FOSA	0.002 \pm 0.001	0.02 \pm 0.004	0.003 \pm 0.002
MeFOSA	ND	ND	ND
EtFOSA	ND	ND	ND
4:2 FTSA	ND	ND	ND
6:2 FTSA	ND	ND	ND
8:2 FTSA	ND	ND	ND
6:2 diPAP	ND	ND	ND
8:2 diPAP	ND	ND	ND

*ND: analyte not found in procedural blanks.

Table S4. PFAS limits of detection (LODs). When PFASs were found in procedural blanks, the LOD was derived from the SD of the blanks, corrected by the Student's coefficient (^a). Otherwise, the LOD was derived from the signal to noise ratio (SNR) of analytes in low contaminated samples (^b) or from the SNR of analytes in fortified matrices (^c) (SNR = 3).

	Sediments	Dissolved phase	SPM
	ng g ⁻¹ dw	ng L ⁻¹	ng g ⁻¹ dw
PFBA	0.03 ^b	0.1 ^b	0.2 ^a
PFPeA	0.02 ^a	0.02 ^a	0.09 ^a
PFHxA	0.01 ^b	0.02 ^b	0.2 ^a
PFHpA	0.009 ^b	0.003 ^b	0.07 ^a
PFOA	0.03 ^a	0.06 ^a	0.006–0.1 ^b
PFNA	0.007 ^b	0.005 ^b	0.005–0.1 ^b
PFDA	0.009 ^a	0.03 ^a	0.02 ^a
PFUnDA	0.019 ^a	0.02 ^b	0.02 ^a
PFDoDA	0.002 ^b	0.02 ^c	0.007–0.2 ^b
PFTTrDA	0.01 ^b	0.1 ^c	0.003–0.07 ^b
PFTeDA	0.03 ^c	0.03 ^c	0.01–0.03 ^b
PFBS	0.002 ^c	0.03 ^a	0.002–0.01 ^b
PFHxS	0.002 ^b	0.02 ^a	0.002–0.03 ^b
PFHpS	0.001 ^b	0.002 ^b	0.002–0.009 ^b
Br-PFOS	0.002 ^b	0.0002 ^b	0.02 ^a
L-PFOS	0.002 ^b	0.03 ^a	0.002–0.06 ^b
PFDS	0.001 ^b	0.005 ^c	0.003–0.01 ^b
MeFOSAA	0.01 ^b	0.03 ^c	0.009–0.01 ^b
EtFOSAA	0.007 ^b	0.02 ^c	0.02–0.03 ^b
FOSA	0.002 ^a	0.02 ^a	0.01 ^a
MeFOSA	0.009 ^c	0.002 ^b	0.003–0.01 ^b
EtFOSA	0.002 ^c	0.005 ^c	0.003 ^b
4:2 FTSA	0.003 ^c	0.03 ^c	0.006 ^c
6:2 FTSA	0.006 ^b	0.006 ^b	0.01–0.02 ^b
8:2 FTSA	0.005 ^b	0.06 ^c	0.01 ^c
6:2 diPAP	0.007 ^b	0.5 ^a	0.02–0.2 ^b
8:2 diPAP	0.03 ^b	0.2 ^b	0.05 ^c

Table S5. PFAS recovery rates (%) (mean \pm SD) in solid samples (Fontainebleau sand) (n = 4) and water samples (Vittel mineral water) (n = 4) fortified at 1 ng g⁻¹ dw and 1 ng L⁻¹, respectively.

	Fontainebleau sand	Water
<i>n</i>	4	4
PFBA	84 \pm 3	79 \pm 7
PFPeA	79 \pm 3	72 \pm 5
PFHxA	83 \pm 3	98 \pm 21
PFHpA	85 \pm 7	79 \pm 5
PFOA	86 \pm 7	84 \pm 5
PFNA	84 \pm 4	77 \pm 5
PFDA	86 \pm 5	66 \pm 10
PFUnDA	89 \pm 5	64 \pm 7
PFDoDA	81 \pm 9	58 \pm 12
PFTTrDA	85 \pm 4	55 \pm 9
PFTeDA	84 \pm 8	53 \pm 11
PFBS	80 \pm 2	99 \pm 8
PFHxS	81 \pm 3	84 \pm 6
PFHpS	82 \pm 5	86 \pm 7
L-PFOS	84 \pm 8	68 \pm 13
PFDS	86 \pm 5	52 \pm 7
MeFOSAA	85 \pm 4	63 \pm 4
EtFOSAA	81 \pm 4	59 \pm 8
FOSA	83 \pm 2	67 \pm 3
MeFOSA	86 \pm 5	40 \pm 5
EtFOSA	82 \pm 4	32 \pm 4
4:2 FTSA	79 \pm 6	82 \pm 6
6:2 FTSA	92 \pm 7	99 \pm 10
8:2 FTSA	89 \pm 4	77 \pm 8
6:2 diPAP	85 \pm 8	34 \pm 9
8:2 diPAP	86 \pm 10	86 \pm 15

Table S6. PFAS accuracy rates (%) (mean \pm SD) in solid samples (Fontainebleau sand) (n = 4) and water samples (Vittel mineral water) (n = 4) fortified at 1 ng g⁻¹ dw and 1 ng L⁻¹, respectively.

	Fontainebleau sand	Water
<i>n</i>	4	4
PFBA	97 \pm 2	116 \pm 4
PFPeA	88 \pm 4	77 \pm 4
PFHxA	95 \pm 7	103 \pm 7
PFHpA	98 \pm 5	91 \pm 4
PFOA	98 \pm 7	103 \pm 9
PFNA	95 \pm 8	89 \pm 9
PFDA	101 \pm 7	101 \pm 3
PFUnDA	105 \pm 8	108 \pm 5
PFDoDA	97 \pm 6	107 \pm 12
PFTTrDA	98 \pm 4	103 \pm 9
PFTeDA	96 \pm 4	103 \pm 8
PFBS	96 \pm 3	121 \pm 5
PFHxS	97 \pm 5	99 \pm 6
PFHpS	95 \pm 6	119 \pm 9
L-PFOS	96 \pm 9	107 \pm 15
PFDS	97 \pm 7	76 \pm 12
MeFOSAA	95 \pm 11	109 \pm 9
EtFOSAA	92 \pm 11	95 \pm 9
FOSA	97 \pm 4	97 \pm 3
MeFOSA	95 \pm 4	111 \pm 7
EtFOSA	95 \pm 1	94 \pm 6
4:2 FTSA	87 \pm 7	107 \pm 8
6:2 FTSA	102 \pm 9	113 \pm 9
8:2 FTSA	97 \pm 5	91 \pm 2
6:2 diPAP	97 \pm 7	104 \pm 16
8:2 diPAP	90 \pm 17	156 \pm 41

Table S7. Internal standard names and corresponding MRM transitions

IS compound	IS acronym	Quantitation transition (m/z)
[1,2- ¹³ C ₂] PFHxA	¹³ C ₂ -PFHxA	314.9 → 269.9
[1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOA	¹³ C ₄ -PFOA	416.9 → 371.9
[1,2- ¹³ C ₂] PFDA	¹³ C ₂ -PFDA	514.9 → 469.9
[1,2- ¹³ C ₂] PFUnDA	¹³ C ₂ -PFUnDA	565.0 → 520.0
[1,2- ¹³ C ₂] PFDoDA	¹³ C ₂ -PFDoDA	615.0 → 570.0
[1,2- ¹³ C ₂] PFTeDA	¹³ C ₂ -PFTeDA	715.0 → 670.0
Sodium [¹⁸ O ₂] ¹⁶ O ⁻ PFHxS	¹⁸ O ₂ -PFHxS	402.0 → 79.9
Sodium [1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOS	¹³ C ₄ -PFOS	502.9 → 79.9
D ₃ -N-MeFOSAA	D ₃ -N-MeFOSAA	573.0 → 418.9
[¹³ C ₈] FOSA	¹³ C ₈ -FOSA	505.9 → 77.9
D ₃ -N-MeFOSA	D ₃ -N-MeFOSA	514.9 → 168.9
D ₅ -N-EtFOSA	D ₅ -N-EtFOSA	531.0 → 168.9
Sodium [1,2- ¹³ C ₂] 6:2 FTSA	¹³ C ₂ -6:2 FTSA	429.0 → 409.0
Sodium [Bis-(1,2)- ¹³ C ₂] 6:2 diPAP	¹³ C ₄ -6:2 diPAP	793.0 → 445.0

Table S8. Mass spectrometry acquisition parameters. Collision energy corresponds to analyte quantitation transitions.

Analyte	Collision Energy (V)	Analyte quantitation (Q) transition (m/z)	Analyte confirmation (C) transition (m/z)	Q/C ratio	Corresponding internal standard
PFBA	2	213.0 → 168.9	-	-	¹³ C ₂ -PFHxA
PFPeA	2	263.0 → 218.9	-	-	¹³ C ₂ -PFHxA
PFHxA	2	313.0 → 268.9	313.0 → 118.9	6	¹³ C ₂ -PFHxA
PFHpA	2	363.0 → 318.9	363.0 → 168.9	28	¹³ C ₄ -PFOA
PFOA	4	413.0 → 368.9	413.0 → 168.9	30	¹³ C ₄ -PFOA
PFNA	4	463.0 → 418.9	463.0 → 218.9	18	¹³ C ₄ -PFOA
PFDA	4	513.0 → 468.9	513.0 → 268.9	9	¹³ C ₂ -PFDA
PFUnDA	4	563.0 → 518.9	563.0 → 268.9	9	¹³ C ₂ -PFUnDA
PFDoDA	4	613.0 → 568.9	613.0 → 168.9	12	¹³ C ₂ -PFDoDA
PFTTrDA	4	663.0 → 618.9	663.0 → 369.0	7	¹³ C ₂ -PFDoDA
PFTeDA	8	712.9 → 668.8	712.9 → 419.0	5	¹³ C ₂ -PFTeDA
PFBS	28	298.9 → 79.9	298.9 → 98.9	29	¹⁸ O ₂ -PFHxS
PFHxS	52	398.9 → 79.9	398.9 → 98.9	30	¹⁸ O ₂ -PFHxS
PFHpS	56	448.9 → 79.9	448.9 → 98.9	30	¹³ C ₄ -PFOS
L-PFOS	60	498.9 → 79.9	498.9 → 98.9	33	¹³ C ₄ -PFOS
PFDS	76	598.9 → 79.9	598.9 → 98.9	31	¹³ C ₄ -PFOS
MeFOSAA	16	570.0 → 511.8	570.0 → 418.8	44	D ₃ -N-MeFOSAA
EtFOSAA	16	584.0 → 525.8	584.0 → 418.8	202	D ₃ -N-MeFOSAA
FOSA	36	497.9 → 77.9	-	-	¹³ C ₈ -FOSA
MeFOSA	28	512.0 → 168.9	512.0 → 218.9	79	D ₃ -N-MeFOSA
EtFOSA	28	526.0 → 168.9	526.0 → 218.9	76	D ₅ -N-EtFOSA
4:2 FTSA	20	327.0 → 306.9	327.0 → 80.5	25	¹³ C ₂ -6:2 FTSA
6:2 FTSA	20	427.0 → 406.8	427.0 → 79.9	31	¹³ C ₂ -6:2 FTSA
8:2 FTSA	28	527.0 → 506.9	527.0 → 80.9	29	¹³ C ₂ -6:2 FTSA
6:2 diPAP	20	789.0 → 443.0	789.0 → 96.9	92	¹³ C ₄ -6:2 diPAP
8:2 diPAP	28	989.0 → 542.8	989.0 → 96.9	214	¹³ C ₄ -6:2 diPAP

Table S9. PFAS occurrence (detection frequency: DF, %) and levels (concentration range) in water (dissolved phase and suspended solids) and sediment samples.

	Dissolved phase (n=42)		Suspended solids (n=42)		Sediments (n=34)	
	DF (%)	Concentration range (ng L ⁻¹)	DF (%)	Concentration range (ng g ⁻¹ dw)	DF (%)	Concentration range (ng g ⁻¹ dw)
PFBA	60	ND*-1.3	7	ND-0.42	6	ND-0.10
PFPeA	88	ND-0.96	43	ND-0.29	79	ND-0.31
PFHxA	93	ND-0.94	26	ND-0.28	74	ND-0.38
PFHpA	100	0.017-0.52	50	ND-0.57	97	ND-0.32
PFOA	90	ND-0.69	98	ND-2.1	88	ND-0.42
PFNA	67	ND-0.67	88	ND-0.47	100	0.012-0.17
PFDA	17	ND-0.090	95	ND-1.0	100	0.014-0.37
PFUnDA	29	ND-0.037	81	ND-0.29	94	ND-0.23
PFDoDA	0	-	71	ND-0.30	91	ND-0.13
PFTTrDA	0	-	36	ND-0.11	71	ND-0.068
PFTeDA	0	-	14	ND-0.074	0	-
PFBS	93	ND-0.85	12	ND-0.020	0	-
PFHxS	98	ND-1.1	81	ND-0.27	71	ND-0.031
PFHpS	76	ND-0.071	40	ND-0.053	3	ND-0.0046
Br-PFOS	100	0.029-1.1	100	0.21-3.4	97	ND-0.055
L-PFOS	95	ND-0.93	100	0.37-4.6	100	ND-0.83
PFDS	0	-	12	ND-0.016	32	ND-0.0092
MeFOSAA	0	-	5	ND-0.031	9	ND-0.083
EtFOSAA	0	-	14	ND-0.093	26	ND-0.17
FOSA	19	ND-0.052	93	ND-0.25	100	0.0020-0.094
MeFOSA	26	ND-0.022	10	ND-0.015	0	-
EtFOSA	0	-	2	ND-0.0056	0	-
4:2 FTSA	0	-	0	-	0	-
6:2 FTSA	62	ND-0.18	17	ND-0.13	18	ND-0.049
8:2 FTSA	0	-	0	-	3	ND-0.015
6:2 diPAP	0	-	24	ND-0.44	21	ND-0.079
8:2 diPAP	5	ND-0.26	0	-	9	ND-0.23
ΣPFASs	-	0.077-8.3	-	0.98-10	-	0.11-3.3

*ND: below detection limit.

Table S10. K_D and Particle-Concentration effect (PCE): regression results based on the following model: $K_D = aSPM^{-b}$. Only samples from transects T#1 through T#7 were considered to this end. Analytes with < 20 % matching pairs were not considered. Numbers in green indicate statistical significance ($p < 0.05$).

Compound	Model significance?	R ²	<i>a</i> (std error)	<i>b</i> (std error)
PFPeA	N ($p = 0.11$)	-	-	-
PFHxA	Y ($p = 0.0018$)	0.6805	7 512 (5 021)	0.478 (0.098)
PFHpA	Y ($p < 0.0001$)	0.8855	16 380 (2 843)	0.589 (0.039)
PFOA	Y ($p < 0.0001$)	0.6537	64 726 (29 000)	0.807 (0.135)
PFNA	Y ($p < 0.0001$)	0.7623	59 664 (19 438)	0.550 (0.083)
PFUnDA	N ($p = 0.7802$)	-	-	-
PFHxS	Y ($p < 0.0001$)	0.8722	2 431 (357)	0.511 (0.039)
PFHpS	Y ($p < 0.0001$)	0.6412	505 556 (802 871)	1.077 (0.288)
Br-PFOS	Y ($p < 0.0001$)	0.9497	30 384 (2 948)	0.540 (0.027)
L-PFOS	Y ($p < 0.0001$)	0.9136	61 458 (7 428)	0.508 (0.033)
FOSA	Y ($p = 0.0207$)	0.6179	19 665 (10 598)	0.311 (0.106)

Table S11. Modeling of K_D : combined influence of particle-concentration effect and salting-out. Multiple regression results based on the following model: $\ln K_D = K_0 + K_1X_1 + K_2X_2$, where $X_1 = \ln \text{SPM}$ (suspended solid load, mg L^{-1}) and $X_2 = S$ (Salinity, ‰). Only samples from transects T#1 through T#7 were considered to this end. Analytes with < 20 % matching pairs were not considered. Numbers in green indicate statistical significance ($p < 0.05$).

Compound	Model significance?	Adjusted R ²	K ₀ (std error)	K ₁ (std error)	K ₂ (std error)	Model
PFPeA	N ($p = 0.35$)	-	-	-	-	-
PFHxA	Y ($p = 0.0178$)	0.5429	8.78 (0.88)	-0.434 (0.12)	-0.033 (0.031)	-
PFHpA	Y ($p < 0.0001$)	0.6257	8.46 (0.59)	-0.389 (0.080)	0.0067 (0.017)	-
PFOA	Y ($p < 0.0001$)	0.8487	9.27 (0.40)	-0.465 (0.057)	0.021 (0.0099)	$K_D = 10615*(\text{SPM})^{-0.465}e^{0.0212*S}$
PFNA	Y ($p < 0.0001$)	0.6757	10.8 (0.69)	-0.510 (0.094)	-0.00031 (0.019)	-
PFUnDA	N ($p = 0.32$)	-	-	-	-	-
PFHxS	Y ($p < 0.0001$)	0.8560	6.83 (0.31)	-0.366 (0.044)	0.020 (0.0079)	$K_D = 922*(\text{SPM})^{-0.366}e^{0.020*S}$
PFHpS	Y ($p < 0.0001$)	0.8648	7.81 (0.50)	-0.346 (0.063)	0.056 (0.017)	$K_D = 2460*(\text{SPM})^{-0.346}e^{0.056*S}$
Br-PFOS	Y ($p < 0.0001$)	0.9382	9.81 (0.23)	-0.471 (0.033)	0.012 (0.0056)	$K_D = 18288*(\text{SPM})^{-0.471}e^{0.012*S}$
L-PFOS	Y ($p < 0.0001$)	0.9171	9.74 (0.25)	-0.335 (0.035)	0.031 (0.0061)	$K_D = 16984*(\text{SPM})^{-0.335}e^{0.031*S}$
FOSA	N ($p = 0.07$)	-	-	-	-	-

Table S12. Pearson correlation matrix (R^2) between sediment quality parameters. CO: organic carbon; FeOX: iron oxides; Grain Size: mass percent fraction of the < 20 μm fraction over the < 2 mm fraction; MO: organic matter; NO: organic nitrogen; carbon soot: black carbon content.

	CO	FeOX	Grain Size	MO	NO	Carbon Soot
CO	-					
FeOX	0.94	-				
Grain Size	0.92	0.96	-			
MO	1.00	0.94	0.92	-		
NO	0.98	0.92	0.96	0.98	-	
Carbon Soot	0.44	0.50	0.48	0.44	0.44	-

Table S13. PFAS levels in sediments and f_{oc} : correlation results. Analytes with < 20 % matching pairs were not considered.

Compound	Model significance?	Kendall's τ	Slope
PFPeA	Y (p = 0.02)	0.29	1.3
PFHxA	Y (p = 0.004)	0.34	1.7
PFHpA	Y (p = 0.0002)	0.44	1.1
PFOA	Y (p < 0.0001)	0.56	2.3
PFNA	Y (p < 0.0001)	0.61	0.81
PFDA	Y (p < 0.0001)	0.59	1.8
PFUnDA	Y (p < 0.0001)	0.71	1.2
PFDoDA	Y (p < 0.0001)	0.59	0.67
PFTTrDA	Y (p < 0.0001)	0.58	0.18
PFHxS	Y (p = 0.0002)	0.45	0.18
Br-PFOS	Y (p < 0.0001)	0.54	0.27
L-PFOS	Y (p < 0.0001)	0.65	4.2
EtFOSAA	N (p = 0.07)	-	-
FOSA	Y (p < 0.0001)	0.51	0.30

Table S14. PFAS levels in sediments and black carbon content: correlation results. Analytes with < 20 % matching pairs were not considered.

Compound	Model significance?	Kendall's τ	Slope
PFPeA	Y (p = 0.03)	0.26	0.076
PFHxA	Y (p = 0.02)	0.27	0.10
PFHpA	Y (p = 0.003)	0.36	0.073
PFOA	Y (p < 0.0001)	0.48	0.15
PFNA	Y (p = 0.0002)	0.45	0.057
PFDA	Y (p = 0.0001)	0.46	0.12
PFUnDA	Y (p < 0.0001)	0.55	0.079
PFDoDA	Y (p = 0.0005)	0.42	0.040
PFTTrDA	Y (p = 0.0002)	0.44	0.033
PFHxS	Y (p = 0.002)	0.36	0.015
Br-PFOS	Y (p = 0.0001)	0.47	0.022
L-PFOS	Y (p < 0.0001)	0.50	0.29
EtFOSAA	Y (p = 0.03)	0.19	0.12
FOSA	Y (p = 0.002)	0.37	0.018

Table S15. Multiple regression results investigating the relative influence of sediment organic carbon fraction f_{OC} (X_1) and distance from upstream sources (X_2) on PFAS concentrations in sediment samples (Y). The models for PFAS levels in the sediment (Y) were obtained with the *cenreg* function of the NADA R-package, using $\ln(1 + Y) = \alpha + \beta X_1 + \gamma X_2$ (both X_1 and X_2 were centered and reduced beforehand). Analytes with < 20 % matching pairs were not considered. Numbers in green indicate statistical significance ($p < 0.05$).

Compound	Model significance?	Log-lik R correl. Coeff.	α	β	γ
PFPeA	Y ($p < 0.0001$)	0.75	0.086	0.038	-0.052
PFHxA	Y ($p = 0.0005$)	0.60	0.12	0.055	-0.058
PFHpA	Y ($p < 0.0001$)	0.77	0.11	0.047	-0.046
PFOA	Y ($p < 0.0001$)	0.85	0.15	0.075	-0.039
PFNA	Y ($p < 0.0001$)	0.82	0.08	0.035	-0.0035
PFDA	Y ($p < 0.0001$)	0.87	0.16	0.068	-0.035
PFUnDA	Y ($p < 0.0001$)	0.92	0.10	0.046	-0.014
PFDoDA	Y ($p < 0.0001$)	0.88	0.059	0.027	-0.014
PFTTrDA	Y ($p < 0.0001$)	0.84	0.031	0.016	-0.010
PFHxS	Y ($p < 0.0001$)	0.74	0.012	0.0064	-0.0045
Br-PFOS	Y ($p < 0.0001$)	0.88	0.028	0.012	-0.0058
L-PFOS	Y ($p < 0.0001$)	0.92	0.32	0.14	-0.061
EtFOSAA	N ($p = 0.15$)	-	-	-	-
FOSA	Y ($p < 0.0001$)	0.78	0.030	0.015	-0.0063

ANNEXES DU CHAPITRE V.1

Variations saisonnières des PFAS en milieu fluvial urbain fortement impacté, la Seine, et transfert au biofilm périphytique

Electronic Supporting Information

Spatio-temporal dynamics of poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) and transfer to periphytic biofilm in an urban river: case-study on the River Seine

Gabriel Munoz^a, Lise C. Fechner^{b,c}, Emmanuel Geneste^a, Patrick Pardon^a, H       Budzinski^d
and Pierre Labadie^{d*}

^a: University of Bordeaux, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France

^b: Irstea Antony, Unité de Recherche Hydrosystèmes et Bioprocédés (HBAN), 1 rue Pierre-Gilles de Gennes, CS 10030, F-92761 Antony Cedex, France

^c: AgroParisTech, F-75005 Paris, France

^d: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France

*Corresponding author. Contact: pierre.labadie@u-bordeaux.fr

TABLE OF CONTENTS

Location of the sampling sites.....	p 577
Characteristics of water samples.....	p 578
Characteristics of biofilm samples.....	p 579
PFAS detection frequency and concentration range.....	p 580
Grain-size distribution in sediment samples.....	p 581
PFAS levels and profiles in sediment samples.....	p 582
PFAS levels and profiles in biofilm samples.....	p 583
Correlations.....	p 584

Location of the sampling sites

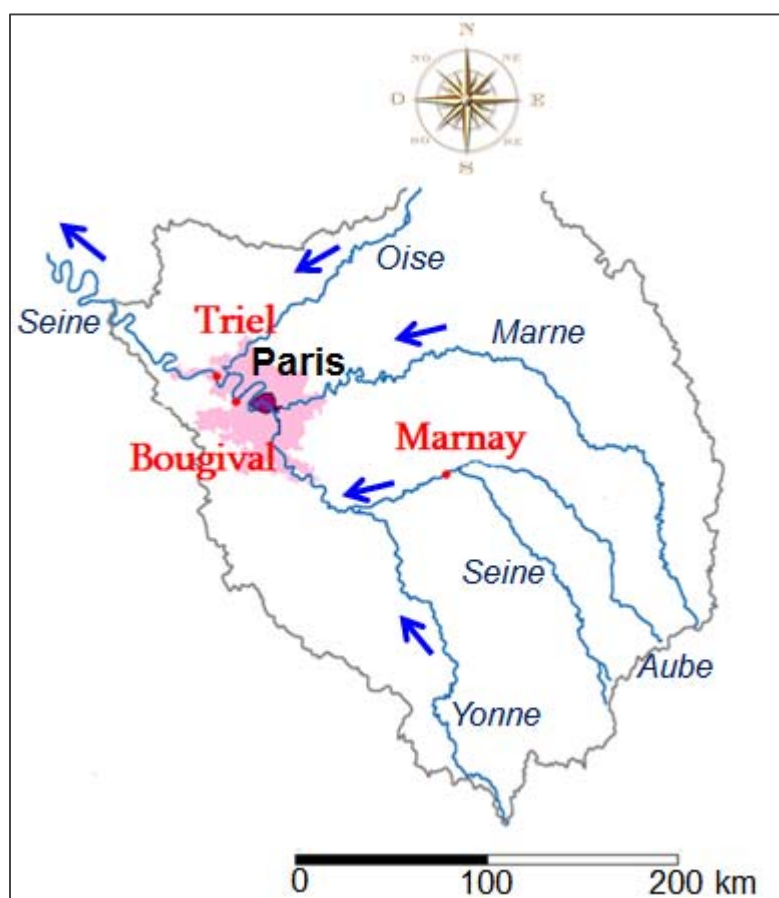


Fig.S1. Location of the three sampling sites along the Seine river. Paris downtown is shown in purple and the Paris urban area in pink. Arrows indicate river flow directions.

Characteristics of water samples

Table S1. Physico-chemical characteristics of water samples collected along the River Seine (mean and standard deviation (SD, n = 3–4)); N/A: not available.

Site	Campaign	Period	Conductivity ($\mu\text{S cm}^{-1}$)		Ca^{2+} (mg/L)		Mg^{2+} (mg L ⁻¹)		K^{+} (mg L ⁻¹)		Na^{+} (mg L ⁻¹)		pH		T (°C)	
			Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Marnay	1	Sept. 2011	371.3	14.5	68.1	4.8	4.3	0.3	1.6	0.1	7.9	0.6	7.8	0.5	18.2	0.8
Bougival	1	Sept. 2011	521.7	20.7	86.6	1.3	8.0	0.2	5.0	0.5	18.4	0.6	7.6	0.4	20.7	0.8
Triel	1	Sept. 2011	582.0	39.3	93.8	1.6	9.5	0.2	6.5	0.8	23.1	0.6	7.6	0.1	20.8	0.5
Marnay	2	March 2012	N/A	N/A	100.4	14.3	4.3	0.4	4.7	0.3	10.5	0.7	7.5	N/A	10.9	N/A
Bougival	2	March 2012	N/A	N/A	114.1	3.9	7.2	0.2	5.6	0.3	16.4	0.8	7.9	N/A	11.7	N/A
Triel	2	March 2012	N/A	N/A	119.9	3.7	8.3	0.3	8.3	0.8	20.1	0.8	7.8	N/A	11.7	N/A
Marnay	3	July 2012	527.0	N/A	138.2	5.8	4.3	0.2	1.6	0.5	6.1	1.0	7.9	0.2	17.5	1.1
Bougival	3	July 2012	547.0	N/A	138.8	7.6	4.9	0.4	6.0	0.8	15.4	2.4	7.8	0.2	20.5	1.3
Triel	3	July 2012	574.0	N/A	143.4	7.8	4.5	0.3	7.1	0.7	19.5	1.8	7.7	0.2	20.7	1.1
Marnay	4	Nov. 2012	532.3	7.9	122.2	11.9	2.6	1.5	1.8	0.3	7.0	1.5	8.0	0.3	7.1	1.5
Bougival	4	Nov. 2012	551.5	31.3	123.0	14.6	4.0	2.4	3.1	0.4	12.1	2.6	7.8	0.4	7.9	1.9
Triel	4	Nov. 2012	581.3	44.3	120.6	13.0	4.2	2.2	4.0	1.2	14.5	3.3	7.9	0.1	7.5	1.3

Characteristics of biofilm samples

Table S2. Characteristics of biofilm samples collected along the River Seine (mean and standard deviation (SD), n=1–4); N/A: not available.

Site	Campaign	Period	Dry weight* ($\mu\text{g cm}^{-2}$)		Organic Carbon (%)		Organic Nitrogen (%)		Organic C/N ratio		Heterotrophic activity* ($\text{nM MUF}^{-1} \text{h}^{-1} \text{cm}^{-2}$)		Chlorophyll a* (mg cm^{-2})		Autotrophic index*	
			Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Marnay	1	Sept. 2011	1226	12	9.1	N/A	0.9	N/A	10.7	N/A	5.1	0.1	9.5	0.4	233	N/A
Bougival	1	Sept. 2011	2151	24	8.1	N/A	1.0	N/A	7.9	N/A	14	1.8	19.8	0.3	245	N/A
Triel	1	Sept. 2011	1886	13	8.8	N/A	1.2	N/A	7.1	N/A	14.1	1.4	29.8	1.3	164	N/A
Marnay	2	March 2012	4331	92	5.6	N/A	0.7	N/A	8.5	N/A	8.9	0.9	23.6	5	240	N/A
Bougival	2	March 2012	1030	25	6.8	N/A	0.9	N/A	7.4	N/A	8.1	1.8	25.2	10.8	83	N/A
Triel	2	March 2012	1986	46	9.6	N/A	1.5	N/A	6.3	N/A	15	0.6	10.6	0.6	424	N/A
Marnay	3	July 2012	1213	197	5.2	N/A	0.7	N/A	7.9	N/A	30.9	2.3	9.9	0.7	264	N/A
Bougival	3	July 2012	1067	32	7.7	N/A	1.1	N/A	7.0	N/A	17.7	3.6	10.2	0.2	399	N/A
Triel	3	July 2012	1096	78	9.1	N/A	1.6	N/A	5.6	N/A	17.7	2.6	25	1	184	N/A
Marnay	4	Nov. 2012	281	4	4.1	N/A	0.5	N/A	8.8	N/A	0.9	0.1	N/A	N/A	N/A	N/A
Bougival	4	Nov. 2012	796	13	3.1	N/A	0.4	N/A	8.1	N/A	1.3	0.2	N/A	N/A	N/A	N/A

*: data taken from Faburé, J., Dufour, M., Autret, A., Uher, E., Fechner, L.C., **2015**. Impact of an urban multi-metal contamination gradient: Metal bioaccumulation and tolerance of river biofilms collected in different seasons. *Aquat. Toxicol.* 159, 276-289.

PFAS detection frequency and concentration range

Table S3. Detection frequency and concentration ranges determined in water (dissolved phase), sediment and biofilm samples.

	Water		Sediment		Biofilm	
	Detection Frequency (%)	Concentration Range (ng L ⁻¹)	Detection Frequency (%)	Concentration Range (ng g ⁻¹ dw)	Detection Frequency (%)	Concentration Range (ng g ⁻¹ dw)
PFPeA	100	0.075–6.4	0	-	0	-
PFHxA	100	0.17–7.7	0	-	0	-
PFHpA	100	0.074–2.8	0	-	0	-
PFOA	100	0.16–5.9	89	nd–0.17	100	0.11–1.0
PFNA	97	nd–2.0	22	nd–0.017	73	nd–1.5
PFDA	94	nd–1.5	89	nd–0.27	100	0.10–1.6
PFUnA	39	nd–0.20	67	nd–0.21	82	nd–1.1
PFDoA	18	nd–0.15	78	nd–0.94	82	nd–3.8
PFTTrDA	0	-	33	nd–0.21	64	nd–0.76
PFTeDA	6	nd–0.021	44	nd–0.40	45	nd–1.1
PFBS	70	nd–3.1	0	-	0	-
PFHxS	100	0.28–7.8	67	nd–0.23	100	0.032–0.25
PFHpS	100	0.016–0.90	0	-	36	nd–0.087
Br-PFOS	100	0.33–14	33	nd–0.10	64	nd–0.82
L-PFOS	100	0.25–16	100	0.081–2.1	100	2.7–21
PFDS	3	nd–0.050	11	nd–0.10	45	nd–0.19
FOSA	76	nd–0.22	89	nd–0.18	73	nd–0.32
MeFOSA	15	nd–0.025	0	-	0	-
EtFOSA	0	-	0	-	0	-
6:2 FTSA	97	nd–41	78	nd–0.51	73	nd–1.1
ΣPFASs		1.8–105		0.18–5.1		4.3–32

Grain-size distribution in sediment samples

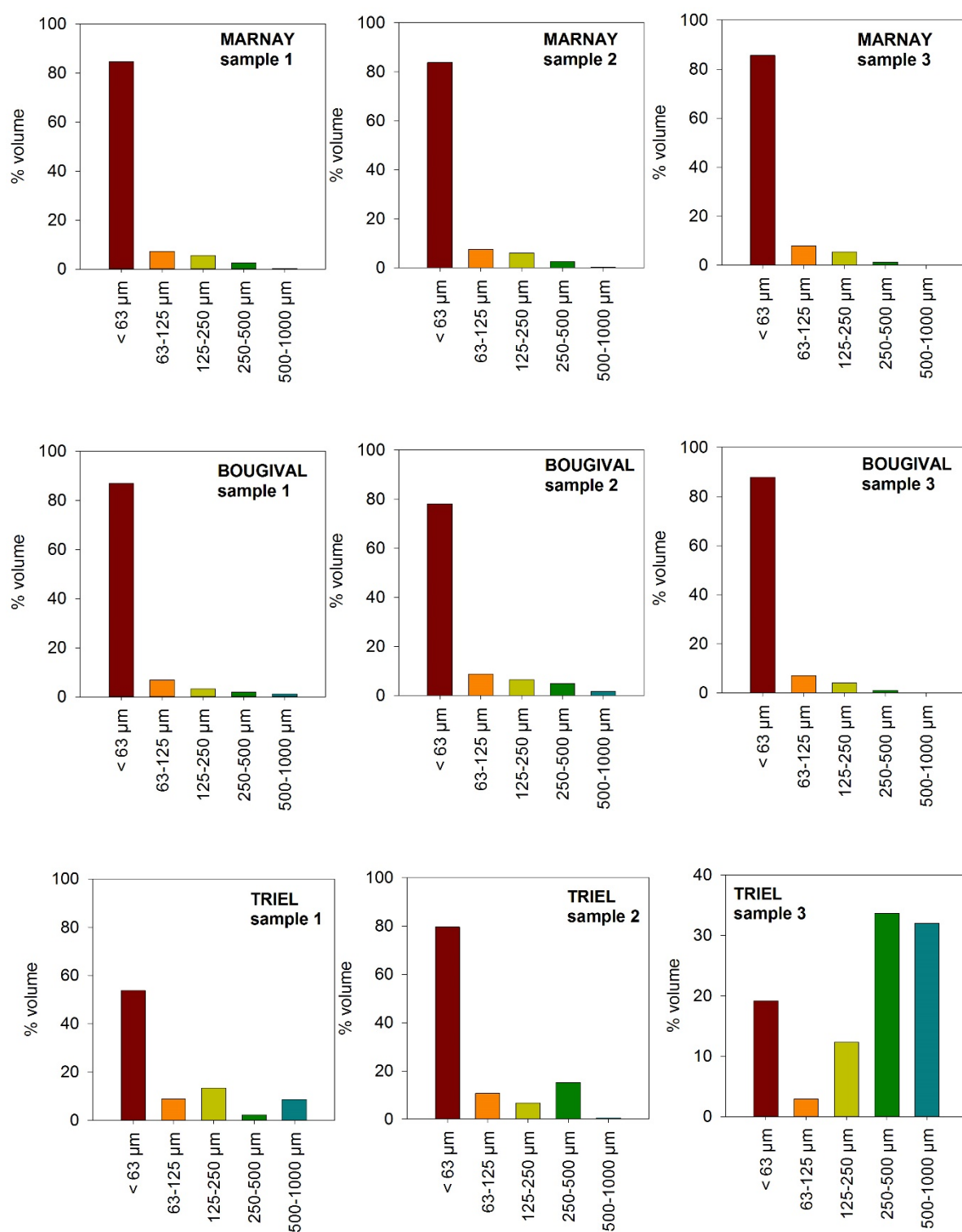


Fig.S2. Grain size distribution in sediment samples collected along the River Seine.

PFAS levels and profiles in sediment samples

Table S4. Total PFAS levels (mean \pm SD) in sediment samples collected along the River Seine.

Sampling site	Σ PFASs ng g ⁻¹ dry weight	Σ PFASs ng g ⁻¹ organic carbon
Marnay	1.1 \pm 0.3	27.8 \pm 9.6
Bougival	2.6 \pm 2.2	39.3 \pm 32.7
Triel	0.8 \pm 0.6	29.6 \pm 33.2

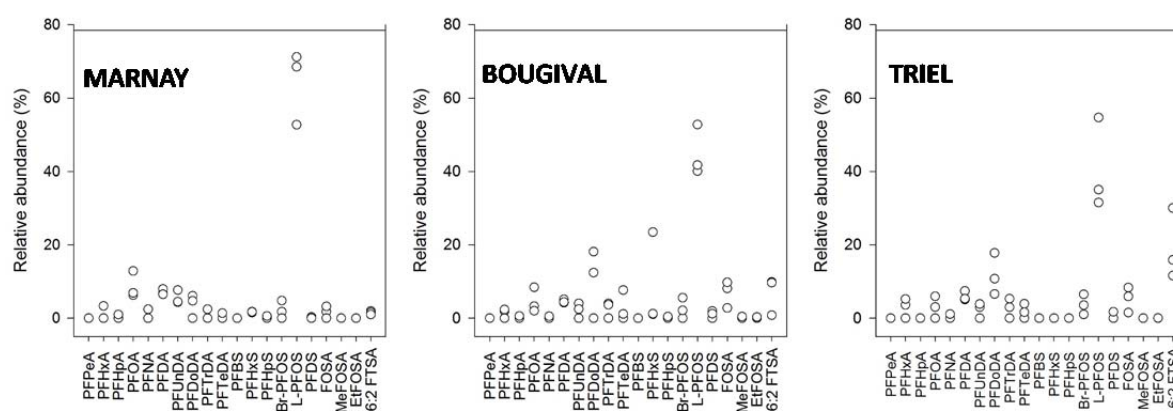


Fig.S3. PFAS molecular pattern in sediment samples collected along the River Seine.

PFAS levels and profiles in biofilm samples

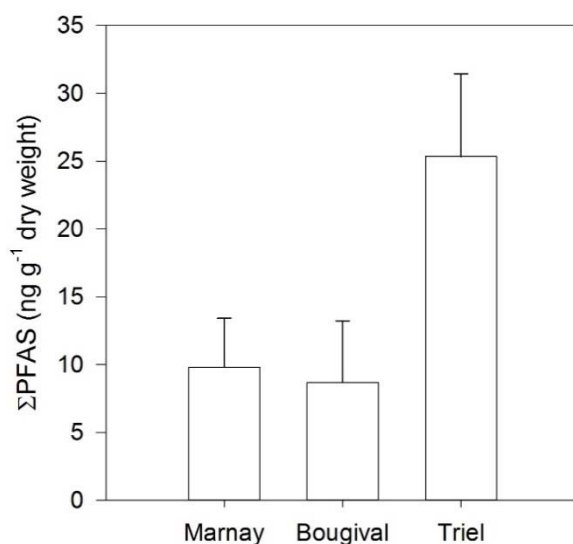


Fig.S4. Total PFAS level in biofilm samples (ng g⁻¹ dry weight); results are expressed as the mean value and error bars represent the standard deviation (n = 3–4).

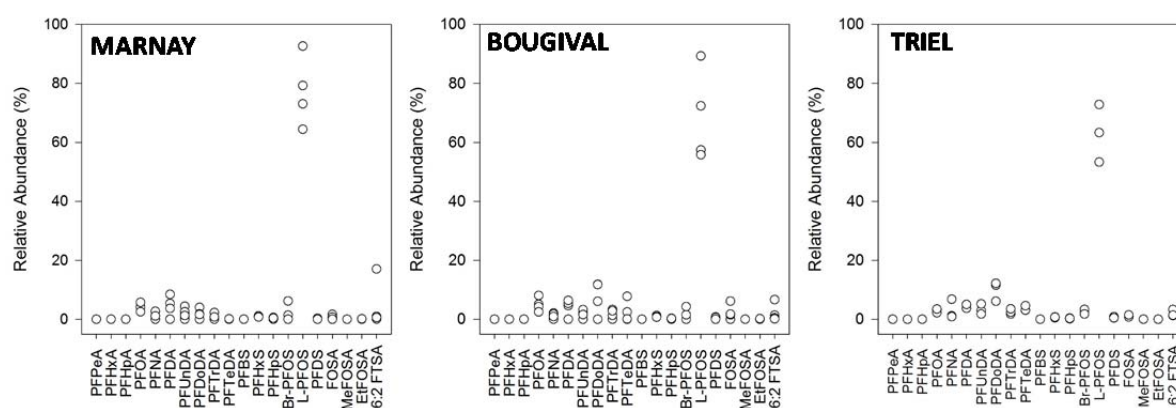


Fig.S5. PFAS molecular pattern in biofilm collected in the River Seine (3–4 samples analyzed per site).

Correlations (1/4)

Table S5. Spearman Rank Order correlation coefficients between PFASs in the River Seine (dissolved phase) at MARNAY (n=12). Significant coefficients ($p < 0.05$) are indicated in bold.

	PFHxA	PFBS	PFHpA	PFOA	PFHxS	PFNA	PFHpS	PFDA	Br-PFOS	L-PFOS	FOSA	6:2-FTSA	River flow rate
PFPeA	0.70	-0.32	0.77	0.67	0.60	0.30	0.66	0.78	0.46	0.50	0.55	-0.30	-0.56
PFHxA		-0.28	0.91	0.98	0.57	0.83	0.86	0.80	0.49	0.51	0.82	-0.60	-0.58
PFBS			-0.46	-0.18	0.39	-0.16	0.11	-0.23	0.13	0.12	-0.53	0.27	0.47
PFHpA				0.86	0.45	0.72	0.71	0.89	0.46	0.54	0.89	-0.65	-0.80
PFOA					0.57	0.79	0.83	0.72	0.46	0.49	0.72	-0.56	-0.52
PFHxS						0.37	0.86	0.60	0.66	0.63	0.27	-0.29	-0.23
PFNA							0.69	0.65	0.50	0.53	0.83	-0.64	-0.56
PFHpS								0.81	0.69	0.65	0.66	-0.42	-0.38
PFDA									0.65	0.68	0.86	-0.56	-0.72
R-PFOS										0.97	0.41	-0.44	-0.50
L-PFOS											0.42	-0.49	-0.61
FOSA												-0.57	-0.73
6:2-FTSA													0.48

Correlations (2/4)

Table S6. Spearman Rank Order correlation coefficients between PFASs in the River Seine (dissolved phase) at BOUGIVAL (n=12). Significant coefficients ($p < 0.05$) are indicated in bold.

	PFHxA	PFBS	PFHpA	PFOA	PFHxS	PFNA	PFHpS	PFDA	Br-PFOS	L-PFOS	FOSA	6:2-FTSA	River flow rate
PFPeA	0.86	0.87	0.89	0.79	0.69	0.89	0.83	0.69	0.88	0.87	0.69	-0.05	-0.60
PFHxA		0.81	0.96	0.89	0.95	0.90	0.94	0.82	0.97	0.93	0.86	0.20	-0.83
PFBS			0.79	0.71	0.71	0.80	0.73	0.55	0.83	0.78	0.65	-0.01	-0.69
PFHpA				0.96	0.90	0.94	0.95	0.81	0.96	0.94	0.89	0.16	-0.84
PFOA					0.91	0.90	0.96	0.85	0.94	0.94	0.92	0.18	-0.86
PFHxS						0.81	0.92	0.77	0.92	0.86	0.92	0.33	-0.93
PFNA							0.94	0.94	0.94	0.96	0.82	-0.05	-0.73
PFHpS								0.91	0.94	0.94	0.85	0.23	-0.78
PFDA									0.85	0.90	0.71	0.18	-0.56
R-PFOS										0.98	0.90	0.10	-0.83
L-PFOS											0.86	0.02	-0.76
FOSA												0.20	-0.93
6:2-FTSA													-0.26

Correlations (3/4)

Table S7. Spearman Rank Order correlation coefficients between PFASs in the River Seine (dissolved phase) at TRIEL (n=12). Significant coefficients (p<0.05) are indicated in bold.

	PFHxA	PFBS	PFHpA	PFOA	PFHxS	PFNA	PFHpS	PFDA	Br-PFOS	L-PFOS	FOSA	6:2-FTSA	River flow rate
PFPeA	0.98	0.65	0.99	0.94	0.77	0.87	0.76	0.94	0.85	0.94	0.72	0.63	- 0.86
PFHxA		0.64	0.97	0.94	0.80	0.83	0.76	0.88	0.86	0.93	0.78	0.64	- 0.92
PFBS			0.65	0.62	0.69	0.50	0.63	0.53	0.63	0.70	0.28	0.86	- 0.65
PFHpA				0.93	0.78	0.86	0.76	0.93	0.86	0.95	0.72	0.64	- 0.87
PFOA					0.79	0.89	0.79	0.89	0.85	0.96	0.79	0.67	- 0.86
PFHxS						0.47	0.96	0.61	0.98	0.89	0.63	0.89	- 0.72
PFNA							0.41	0.94	0.58	0.78	0.68	0.35	- 0.83
PFHpS								0.59	0.96	0.90	0.61	0.88	- 0.65
PFDA									0.70	0.84	0.72	0.46	- 0.79
R-PFOS										0.94	0.72	0.83	- 0.77
L-PFOS											0.72	0.78	- 0.83
FOSA												0.36	- 0.80
6:2-FTSA													- 0.62

Correlations (4/4)

Table S8. Spearman Rank Order Correlation coefficients between river flow rate and major cations in the River Seine (n=12); significant coefficients (p<0.05) are indicated in bold.

Marnay	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺
flow rate	0.88	-0.58	-0.77	-0.006
Ca ²⁺		-0.43	0.56	0.16
Mg ²⁺			-0.27	0.37
K ⁺				0.10
Bougival	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺
flow rate	0.84	-0.92	-0.78	-0.86
Ca ²⁺		-0.88	-0.75	-0.56
Mg ²⁺			0.78	0.79
K ⁺				0.71
Triel	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺
flow rate	0.72	-0.92	-0.92	-0.93
Ca ²⁺		-0.88	-0.66	-0.67
Mg ²⁺			0.81	0.89
K ⁺				0.94

Table S9. Pearson Product Moment Correlation coefficients between BCF and biogeochemical parameters or biofilm characteristics. Significant coefficients (p<0.05) are indicated in bold.

	BCF PFOA	BCF PFHxS	BCF PFOS
Temperature	-0.19	-0.15	-0.44
Dissolved Ca ²⁺	-0.37	-0.40	-0.17
Dissolved Mg ²⁺	-0.58	-0.56	-0.67
Dissolved K ⁺	-0.68	-0.71	-0.76
Dissolved Na ⁺	-0.79	-0.69	-0.85
pH	-0.03	0.16	0.32
Dissolved PFAS concentration	-0.68	-0.64	-0.73
Biofilm dry weight (µg cm ⁻²)	0.24	-0.13	-0.08
Biofilm organic nitrogen content (%)	-0.48	-0.41	-0.58
Biofilm organic carbon content (%)	-0.20	-0.11	-0.40
Biofilm organic C/N ratio	0.78	0.79	0.71
Heterotrophic activity (nM MUF/h/cm ²)	-0.16	-0.35	-0.29
Autotrophic index	-0.03	-0.06	0.06
Chlorophyll a (mg cm ⁻²)	-0.34	-0.34	-0.46

ANNEXES DU CHAPITRE V.2

Suivi mensuel de la contamination de la colonne d'eau et des premiers maillons trophiques en PFAS au niveau du site pilote de Pauillac (Octobre 2012–Octobre 2013)

Electronic Supporting Information

One-year monitoring of temporal variations and partitioning behavior of poly- and perfluoroalkyl substances between water, suspended particulate matter and biota in a macrotidal estuary: case-study on the Gironde

Gabriel Munoz^a, Marc Babut^b, Jérémy Lobry^c, Jonathan Selleslagh^d, Nathalie Tapie^a, Hélène Budzinski^e and Pierre Labadie^{e,*}

^a: Université de Bordeaux, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, 33400 Talence, France.

^b: UR MALY Irstea, 69626 Villeurbanne cedex, France.

^c: IRSTEA, UR EABX, 33610 Cestas, France.

^d: Université de Bordeaux, EPOC, UMR 5805, EA Research Group, 33120 Arcachon, France.

^e: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, 33400 Talence, France.

*Corresponding author.

Contact: pierre.labadie@u-bordeaux.fr

Content























Chemicals and solvents.....	p 591
List of PFASs targeted.....	p 592
Location of Pauillac sampling site.....	p 593
Sampling conditions and physical chemical parameters.....	p 594
Recoveries.....	p 595
Analysis of SRM 1947.....	p 596
Procedural blanks.....	p 597
Estimated daily flow rate during the water year.....	p 598
Variations of salinity and turbidity at Pauillac during the water year.....	p 599
Correlations in the water column.....	p 600
Estimated monthly rainfall.....	p 601
Meteorological and hydrodynamic parameters related to the PFHpA/PFOA ratio.....	p 601
Average PFAS molecular patterns in biota samples.....	p 602
Relation between BAF and perfluoroalkyl chain length.....	p 603
Mean biomagnification factors ($C_{\text{mysids}}/C_{\text{copepods}}$).....	p 604
References.....	p 604

Chemicals and solvents

HPLC-grade ethanol (EtOH) was from Scharlau (ICS, Gradignan, France), while methanol (MeOH) and acetonitrile (ACN) were from J.T. Baker (Atlantic Labo, Bruges, France). Ultrapure water was obtained using a Millipore Elix 10 system fitted with an EDS Pak polisher. Nitrogen gas (N_2 , 99.999 %) was from Linde (S^t Priest, France). Strata X-AW cartridges (200 mg/6 mL) were supplied by Phenomenex (Le Pecq, France). Supelclean ENVI-Carb cartridges (0.25 g/6 mL), ammonium hydroxide (NH_4OH) (28.0-30.0 % NH_3 basis) and ammonium acetate (CH_3COONH_4) (Fluka) for HPLC (≥ 99.0 %) were obtained from Sigma-Aldrich (S^t Quentin Fallavier, France).

List of PFASs targeted

Table S1. List of PFASs targeted in this study.

Acronym	Compound name	Structure	CAS
PFBA	perfluoro-n-butanoate		375-22-4
PFPeA	perfluoro-n-pentanoate		2706-90-3
PFHxA	perfluoro-n-hexanoate		307-24-4
PFHpA	perfluoro-n-heptanoate		375-85-9
PFOA	perfluoro-n-octanoate		335-67-1
PFNA	perfluoro-n-nonanoate		375-95-1
PFDA	perfluoro-n-decanoate		335-76-2
PFUnDA	perfluoro-n-undecanoate		2058-94-8
PFDoDA	perfluoro-n-dodecanoate		307-55-1
PFTTrDA	perfluoro-n-tridecanoate		72629-94-8
PFTeDA	perfluoro-n-tetradecanoate		376-06-7
PFBS	perfluoro-1-butanesulfonate		375-73-5
L-PFHxS	perfluoro-1-hexanesulfonate		355-46-4
PFHpS	perfluoro-1-heptanesulfonate		375-92-8
Br-PFOS	(cluster of branched PFOS isomers)	NA	NA
L-PFOS	n-perfluoro-1-octanesulfonate		1763-23-1
PFDS	perfluoro-1-decanesulfonate		355-77-3
MeFOSAA	2-(N-methyl perfluorooctane sulfonamido) acetate		NA
EtFOSAA	2-(N-ethyl perfluorooctane sulfonamido) acetate		NA
L-FOSA	perfluorooctane sulfonamide		754-91-6
MeFOSA	N-methyl perfluorooctane sulfonamide		31506-32-8
EtFOSA	N-ethyl perfluorooctane sulfonamide		4151-50-2
6:2 FTSA	1H,1H,2H,2H-perfluorooctane sulfonate		27619-97-2

Location of Pauillac sampling site

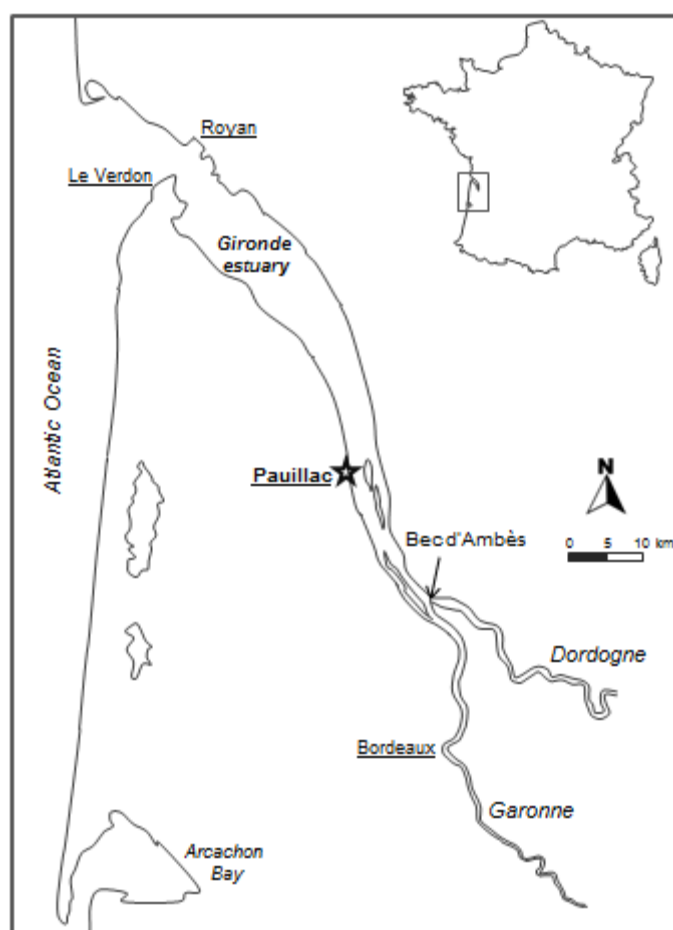


Fig.S1. Map showing the general setting of the Gironde estuary and the location of Pauillac sampling site.

Sampling conditions and physical chemical parameters

Table S2. Basic information on the sampling conditions and physical chemical parameters at Pauillac (Gironde estuary).

<i>Sampling date</i>	<i>2012/10/22</i>	<i>2012/11/22</i>	<i>2012/12/20</i>	<i>2013/01/17</i>	<i>2013/02/21</i>	<i>2013/03/18</i>	<i>2013/04/16</i>	<i>2013/05/16</i>	<i>2013/06/19</i>	<i>2013/07/29</i>	<i>2013/09/13</i>	<i>2013/10/01</i>
Time at high tide	12h12	13h20	11h20	9h38	15h29	9h44	10h15	10h33	15h20	11h26	12h44	16h51
Tidal height (m)	4.7	4.6	4.75	5.35	4.45	4.65	4.7	4.55	4.85	4.6	4.5	4.7
Tidal coefficient	53	49	55	74	42	54	57	54	57	61	50	57
Estimated flow rate (m³ s⁻¹)	472	251	1,348	1,847	1,403	996	1,450	1,023	1,653	400	326	258
Water temperature at high tide	17.4	12.5	8.7	6.6	8.1	8.9	8.9	15.3	19	25.7	21	20.7
Salinity at high tide (‰)	10.8	7.5	4.5	2.7	0.7	2.5	0.4	0.9	0	4.8	8.6	11.6
pH	NA	NA	8.05	7.96	8.25	7.99	7.6	8.07	7.95	7.81	8.07	7.91
SPM (mg L⁻¹)	1,184	1,538	1,916	706	132	1,529	589	957	315	782	866	520
COP (%)	1.93	2.66	1.81	2.26	2.57	1.8	1.96	2.06	2.7	1.93	2.05	1.58

Recoveries

Table S3. Recoveries (mean \pm standard deviation) for each of the three matrices.

	Vittel spring water (500 mL)	Reference sediment (1 g)	Brown trout (0.25 g)
Replicates	3	3	3
Spike level	1 ng L ⁻¹	0.5 ng g ⁻¹ dw*	0.7 ng g ⁻¹ ww**
PFBA	97 \pm 7	NA***	NA
PFPeA	94 \pm 12	NA	NA
PFHxA	103 \pm 9	NA	NA
PFHpA	105 \pm 7	67 \pm 10	93 \pm 5
PFOA	115 \pm 4	65 \pm 11	102 \pm 1
PFNA	97 \pm 3	69 \pm 9	98 \pm 11
PFDA	94 \pm 6	86 \pm 10	78 \pm 13
PFUnDA	77 \pm 9	76 \pm 10	99 \pm 14
PFDoDA	70 \pm 6	84 \pm 7	90 \pm 14
PFTTrDA	55 \pm 3	76 \pm 8	82 \pm 6
PFTeDA	61 \pm 6	83 \pm 10	52 \pm 13
PFBS	107 \pm 9	NA	73 \pm 2
PFHxS	102 \pm 7	64 \pm 3	87 \pm 4
PFHpS	104 \pm 9	66 \pm 5	93 \pm 10
L-PFOS	79 \pm 8	75 \pm 4	92 \pm 9
PFDS	60 \pm 3	65 \pm 4	119 \pm 10
MeFOSAA	81 \pm 8	60 \pm 3	93 \pm 11
EtFOSAA	60 \pm 4	75 \pm 3	104 \pm 8
FOSA	88 \pm 2	63 \pm 3	81 \pm 2
MeFOSA	62 \pm 7	61 \pm 4	56 \pm 14
EtFOSA	53 \pm 4	56 \pm 4	88 \pm 5
6:2 FTSA	74 \pm 8	119 \pm 22	84 \pm 5

*dw: dry weight. **ww: wet weight. ***NA: not available.

Analysis of NIST SRM 1947

SRM 1947

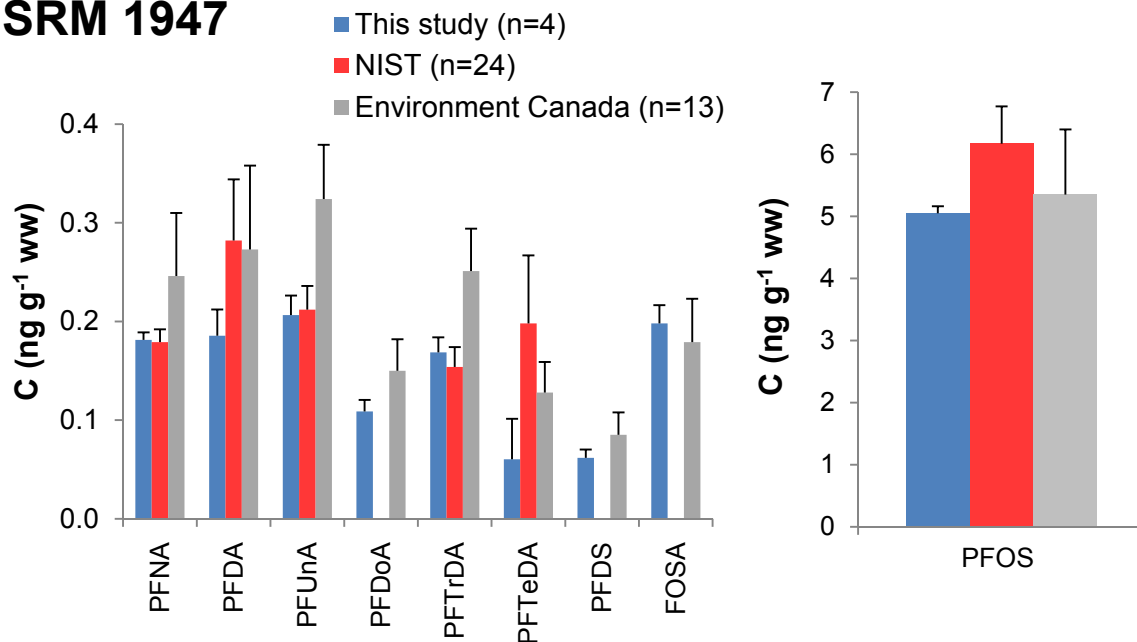


Fig.S2. NIST SRM 1947 (Lake Michigan trout tissue) concentrations (ng g⁻¹ ww) obtained in the present study, compared with values from NIST and Environment Canada (Reiner et al., 2012). “PFOS” refers to the sum of the linear (L-PFOS) and branched isomers (Br-PFOS).

Procedural blanks

Table S4. PFAS levels in blanks. Results are given as mean \pm standard deviation (ng).

	SPE blanks (ng)	Microwave blanks (ng)
Matrix	mineral water (1 L)	EtOH (10 mL)
Number of blank replicates	7	15
PFBA	0.09 \pm 0.06	NA**
PFPeA	0.19 \pm 0.04	NA
PFHxA	0.03 \pm 0.05	NA
PFHpA	0.001 \pm 0.003	0.04 \pm 0.06
PFOA	0.013 \pm 0.011	0.05 \pm 0.05
PFNA	0.001 \pm 0.003	0.006 \pm 0.01
PFDA	0.03 \pm 0.02	0.05 \pm 0.03
PFUnDA	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.02
PFDoDA	ND*	ND
PFTTrDA	0.001 \pm 0.004	ND
PFTeDA	0.004 \pm 0.01	ND
PFBS	0.006 \pm 0.01	0.003 \pm 0.005
Br-PFHxS	ND	ND
L-PFHxS	0.001 \pm 0.002	0.002 \pm 0.01
PFHpS	ND	ND
Br-PFOS	ND	0.002 \pm 0.004
L-PFOS	0.001 \pm 0.003	0.001 \pm 0.003
PFDS	ND	ND
MeFOSAA	ND	ND
EtFOSAA	ND	ND
Br-FOSA	ND	ND
L-FOSA	0.01 \pm 0.04	0.006 \pm 0.004
MeFOSA	0.006 \pm 0.01	0.001 \pm 0.004
EtFOSA	0.004 \pm 0.005	ND
6:2 FTSA	ND	0.001 \pm 0.002

*ND: not detected.

**NA: not available.

Estimated daily flow rate during the water year

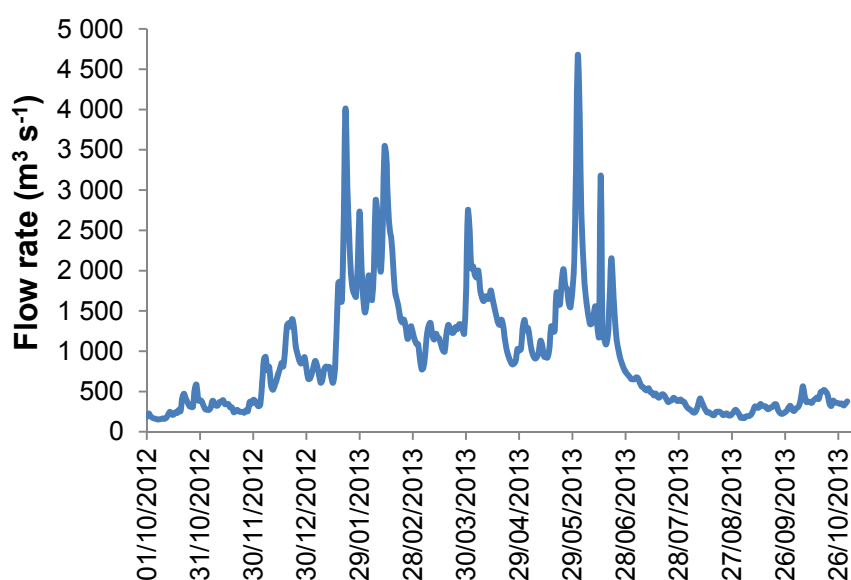
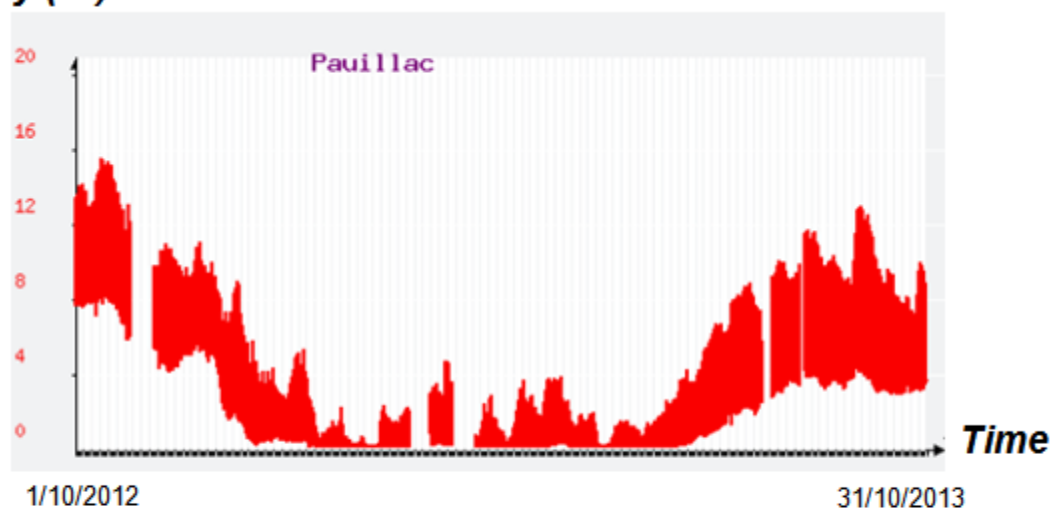


Fig.S3. Estimated daily flow rate ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) at Pauillac during the time period of this study. Flow rate was estimated by combining daily flow rates in the Garonne at Tonneins and those in the Dordogne at Pessac-sur-Dordogne (data retrieved from <http://www.hydro.eaufrance.fr/>).

Variations of salinity and turbidity at Pauillac during the water year

Salinity (‰)



Turbidity (NTU)

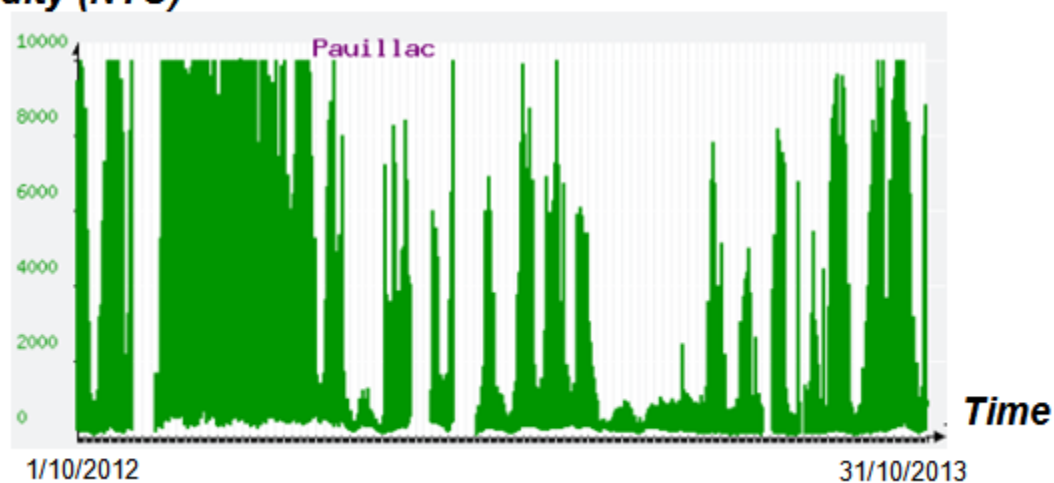


Fig.S4. Salinity and turbidity measured at Pauillac during the time period of this study (October 2012–2013). Data supplied by MAGEST (Réseau de surveillance automatisée du système estuarien Garonne–Dordogne–Gironde).

Correlations in the water column

Table S5. Spearman Rank Order correlation coefficients between PFAS levels in the water column (dissolved phase + SPM) (n=12) and environmental parameters: estimated flow rate, suspended solid load (SPM), and estimated monthly rainfall. Significant coefficients (p<0.05) are indicated in bold.

	C₄–C₆ PFCAs	C₇–C₉ PFCAs	C₁₀–C₁₄ PFCAs	PFOS	6:2 FTSA	ΣPFASs	Flow rate	SPM
C₄–C₆ PFCAs	-							
C₇–C₉ PFCAs	0.79	-						
C₁₀–C₁₄ PFCAs	0.66	0.92	-					
PFOS	0.80	0.93	0.78	-				
6:2 FTSA	-0.65	-0.43	-0.38	-0.50	-			
ΣPFASs	0.95	0.79	0.91	0.90	-0.63	-		
Flow rate	-0.29	-0.10	-0.16	-0.22	0.85	-0.28	-	
SPM	0.46	0.69	0.87	0.58	-0.40	0.59	-0.40	-
Rainfall	0.55*	0.55*	0.41	0.48	-0.10	0.58	0.29	0.10

*near-significant (p=0.06)

Estimated monthly rainfall

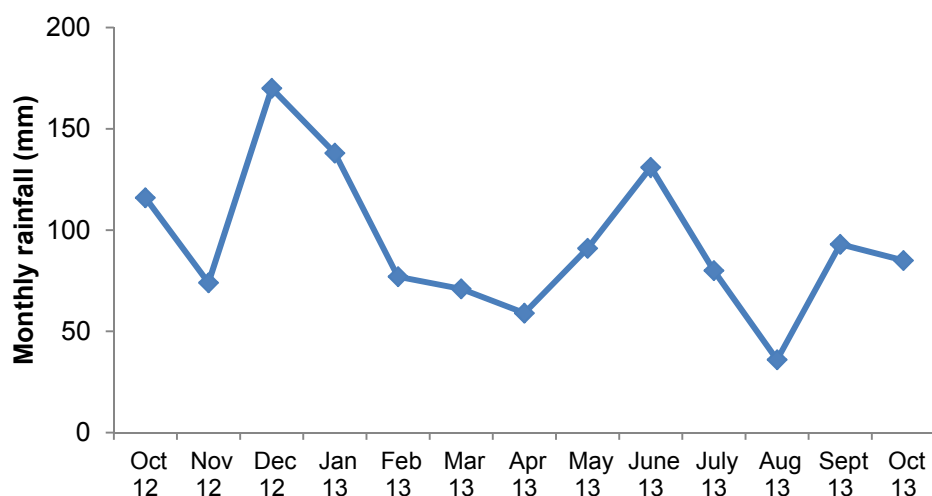


Fig.S5. Estimated monthly rainfall (mm) during the time period of this study (data retrieved from Météo France, Merignac weather station).

Meteorological and hydrodynamic parameters related to the PFHpA/PFOA ratio

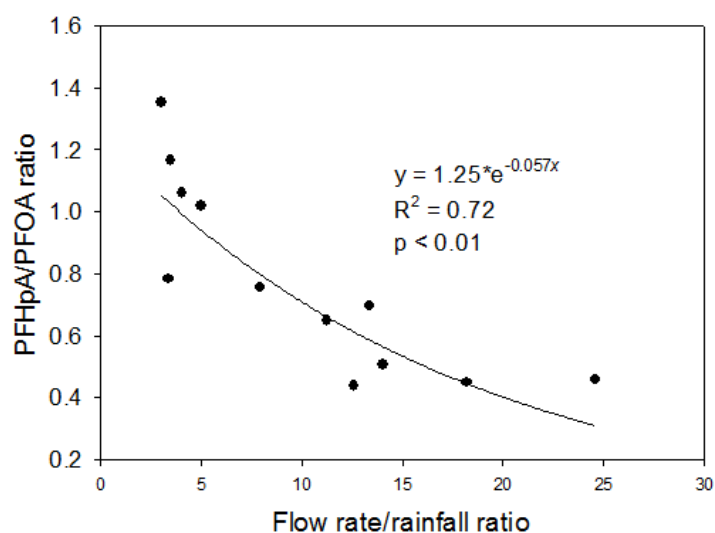


Fig.S6. Scatter plot of the PFHpA to PFOA ratio (dissolved phase) Vs. the estimated Gironde flow rate ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) to monthly rainfall ratio (mm) (data retrieved from hydrofrance.fr and meteoFrance.fr).

Average PFAS molecular patterns in biota samples

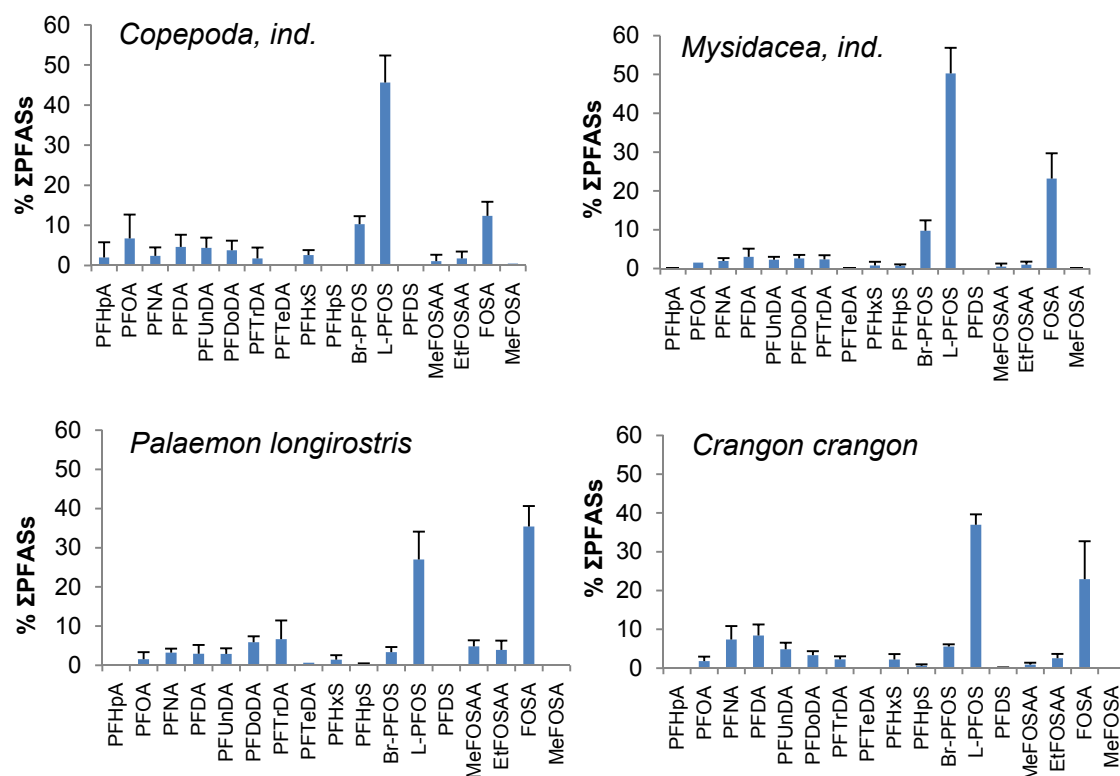


Fig.S7. Mean PFAS relative abundance profiles (% ΣPFASs) for copepods (*Copepoda, ind.*), mysids (*Mysidacea, ind.*), white shrimps (*Palaemon longirostris*) and brown shrimps (*Crangon crangon*).

Relation between BAF and perfluoroalkyl chain length

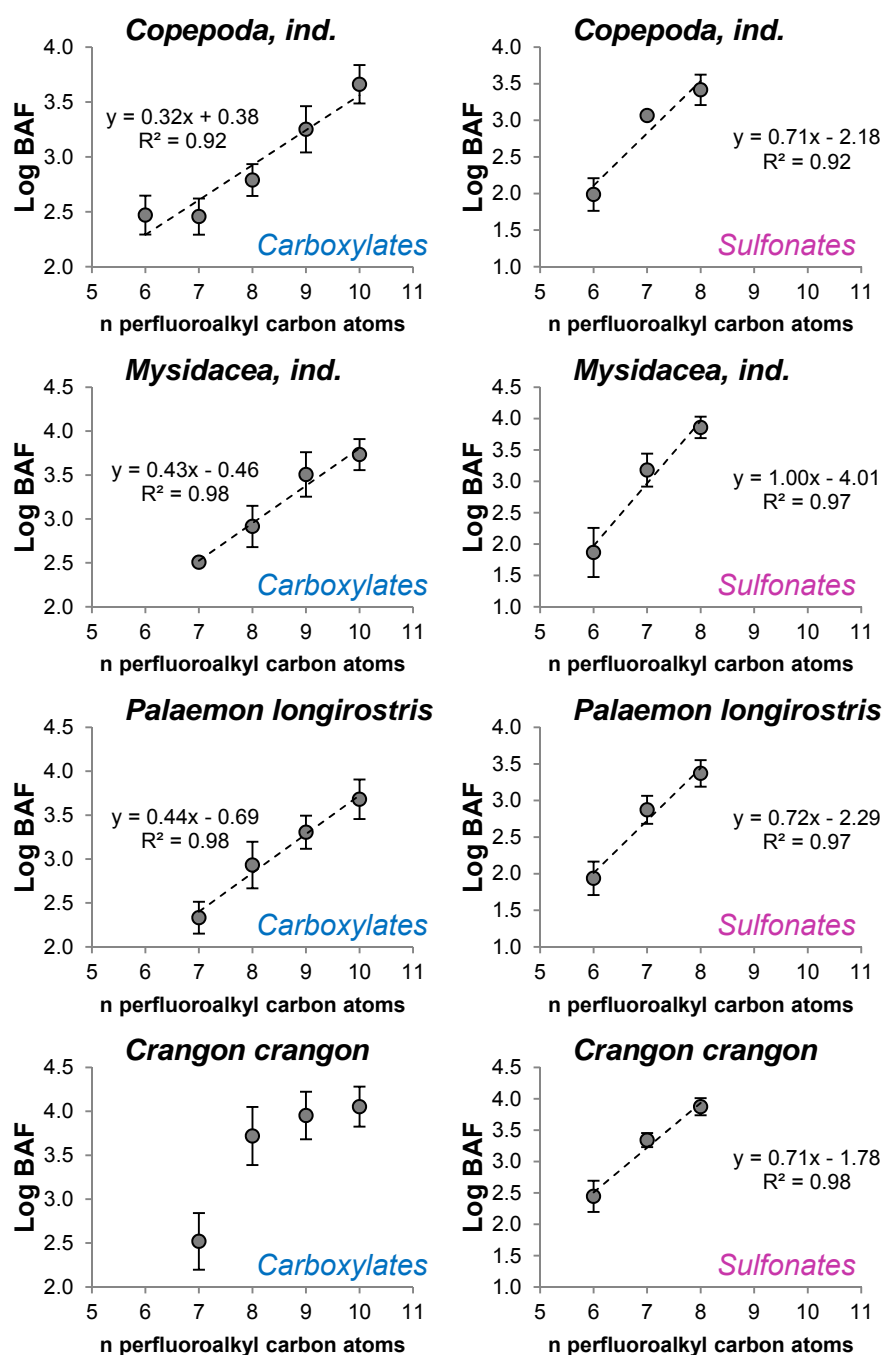


Fig.S8. Correlations between the bioaccumulation factor Log BAF and the perfluoroalkyl chain length (number of perfluoroalkyl carbon atoms).

Mean biomagnification factors ($BMF = C_{mysid} / C_{copepod}$)

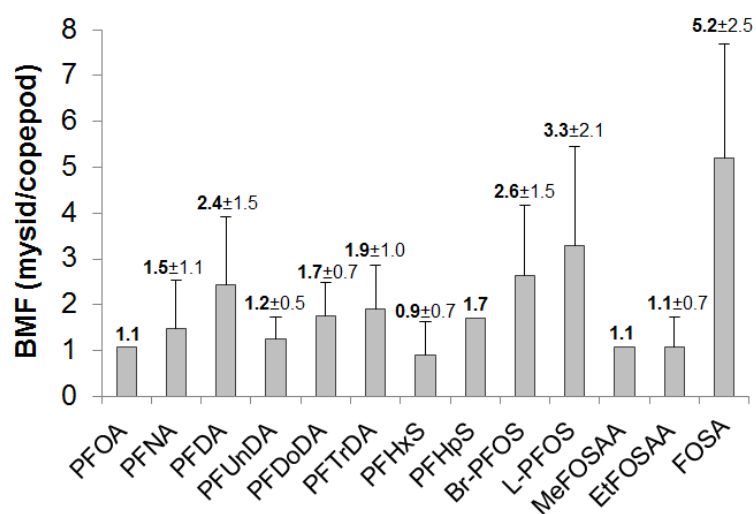


Fig.S9. Biomagnification factors ($BMF = C_{mysid} / C_{copepod}$) (mean \pm SD). Error bars indicate standard deviations (n = 12).

References

Reiner, J.L., O'Connell, S.G., Butt, C.M., Mabury, S.A., Small, J.M., De Silva, A.O., Muir, D.C.G., Delinsky, A.D., Strynar, M.J., Lindstrom, A.B., Reagen, W.K., Malinsky, M., Schäfer, S., Kwadijk, C.J.A.F., Schantz, M.M., Keller, J.M., **2012**. Determination of perfluoroalkyl acid concentrations in biological standard reference materials. *Anal. Bioanal. Chem.* 404, 2683–2692.

ANNEXES DU CHAPITRE V.3

Bioamplification des PFAS en milieu estuarien : étude de cas du réseau trophique de l'estuaire de la Gironde

Electronic Supporting Information

Evidence for the Trophic Transfer of Perfluoroalkylated Substances in a Macrotidal Estuary

Gabriel Munoz¹, Marc Babut², Hilaire Drouineau³, Jérémy Lobry³, Jonathan Selleslagh⁴, Hélène Budzinski⁵, Pierre Labadie^{5,*}

¹: Bordeaux University, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, F-33400 Talence, France.

²: IRSTEA, UR MALY, F-69626 Villeurbanne cedex, France.

³: IRSTEA, UR EABX, F-33610 Cestas, France.

⁴: Bordeaux University, EPOC, UMR 5805, EA Research Group, F-33120 Arcachon, France.

⁵: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group F-33400 Talence, France.

*Corresponding author. Contact: pierre.labadie@u-bordeaux.fr

Contents: 5 Figures, 12 Tables.

Table of Contents

Details on chemicals and solvents.....	p 608
Collection and handling of water and sediment samples.....	p 608
R scripts for the determination of TMFs via <i>cenken</i> and <i>Imec</i>	p 609

Figures

General setting of the Gironde estuary.....	p 611
Isotopic Analyses: Control chart of the in-house mussel matrix.....	p 612
PFAS abundance profiles for the biota species collected.....	p 613
Boxplots showing the distribution of PFOS in fish fillets.....	p 617
TMF Vs perfluoroalkyl chain length of PFCAs in the benthic food web.....	p 617

Tables

List of PFAS investigated in the present study.....	p 618
Conversion factors used to convert muscle to whole-body PFAS concentrations.....	p 619
Limits of detection.....	p 620
PFAS QC: Analysis of in-house spotted seabass matrix and NIST SRM 1947.....	p 621
Determination of TLs: values for the α and $(1 - \alpha)$ coefficients.....	p 622
PFAS concentration range in surface water and sediment samples.....	p 623
PFAS concentration range in biota samples.....	p 624
Summary of bioaccumulation factors (BAF).....	p 626
Summary of biota-to-sediment accumulation factors (BSAF).....	p 627
Summary of biomagnification factors (BMF).....	p 628
Summary of biomagnification factors corrected for $\delta^{15}\text{N}$ (BMF_{TL}).....	p 629
TMF values determined via <i>cenken</i>	p 630

Details on chemicals and solvents

HPLC-grade ethanol (EtOH) was from Scharlau (ICS, Gradignan, France), while methanol (MeOH) and acetonitrile (ACN) were from J.T. Baker (Atlantic Labo, Bruges, France). Ultrapure water was obtained using a Millipore Elix 10 system fitted with an EDS Pak polisher. Nitrogen gas (99.999 %) was from Linde (S^t Priest, France). Strata X-AW cartridges (200 mg/6 mL) were supplied by Phenomenex (Le Pecq, France). Supelclean ENVI-Carb cartridges (250 mg/6 mL), ammonium hydroxide (NH₄OH) (28.0-30.0 % NH₃ basis) and ammonium acetate (CH₃COONH₄) (Fluka) for HPLC (≥ 99.0 %) were obtained from Sigma-Aldrich (S^t Quentin Fallavier, France).

Collection and handling of water and sediment samples

6 water samples were collected in 2012 (May-November period) in the mesohaline zone of the estuary. 0.5 L high density polypropylene bottles were rinsed 3 times with the site surface water, filled to the brim, and stored in a cooling box. Water samples were passed through GF/F (0.7 µm) microfiber filters using Nalgene® polyethylene filtration units, and the filtrates were kept at - 20 °C until analysis. Similarly, 5 sediment samples were collected along intertidal mudflats in the Gironde estuary (see SI **Fig.S1**). At each sampling site, composite sediment samples were collected in aluminum trays from 3–5 evenly spaced points. The top layer (1–5 cm depth) of the sediment was retrieved, and samples were sealed and stored in a cooling box. Upon arrival at the laboratory, sediment samples were freeze-dried (120 h), ground, and homogenized prior to analysis.

R-scripts for the determination of TMFs via *cenken* or *Imec*

DataSet_TMF_Gironde: dataframe containing the following columns: PFOA, PFOA_Cen, PFNA, PFNA_Cen, PFDA, PFDA_Cen, PFUnDA, PFUnDA_Cen, PFDoDA, PFDoDA_Cen, PFTrDA, PFTrDA_Cen, PFTeDA, PFTeDA_Cen, PFHxS, PFHxS_Cen, PFHpS, PFHpS_Cen, BrPFOS, BrPFOS_Cen, LPFOS, LPFOS_Cen, PFDS, PFDS_Cen, MeFOSAA, MeFOSAA_Cen, EtFOSAA, EtFOSAA_Cen, FOSA, FOSA_Cen, TL, TL_Cen, Taxon.

PFUnDA: numerical vector containing the values of $\text{Log}(C_{\text{PFUnDA}})$, where C_{PFUnDA} is the concentration of PFUnDA in biota (ng g^{-1} wet weight whole body).

PFUnDA_Cen: logical vector stating whether the concentration of PFUnDA observed at a given sampling site was censored (data < LOD) or uncensored (data > LOD), indicating "TRUE" when the value was censored, and "FALSE" otherwise.

TL: numerical vector containing the values of TLs (trophic levels).

TL_Cen: logical vector stating whether the determined trophic level is censored or uncensored. In the present study, all $\delta^{15}\text{N}$ values were quantifiable and all TL values are thus uncensored.

Taxon: vector of categorical variables containing the information on taxon type.

! Note that when using the *cenken* command for a $Y = f(X)$ regression, Y and Y_{cen} should appear before X and X_{cen} (*cenken*(Y , Y_{cen} , X , X_{cen})). However, to produce the corresponding scatterplot (*cenxyplot*), the opposite order prevails (*cenxyplot*(X , X_{cen} , Y , Y_{cen})).

[cenken script](#)

```
> DataSet_TMF_Gironde <- read.delim("~/PhD_folder/DataSet_TMF_Gironde.txt")
> View(DataSet_TMF_Gironde)
> library(NADA)
> regression = with(DataSet_TMF_Gironde, cenken(PFUnDA, PFUnDA_Cen, TL, TL_Cen))
> regression
> Slope_Cenken <- regression$slope
> TMF_Cenken <- 10^Slope_Cenken
> TMF_Cenken
```

Imec script

```
> DataSet_TMF_Gironde <- read.delim("~/PhD_folder/DataSet_TMF_Gironde.txt")
> View(DataSet_TMF_Gironde)
> library(lmec)
> cens = DataSet_TMF_Gironde$PFUnDA_Cen
> yL = DataSet_TMF_Gironde$PFUnDA
> X = cbind(rep(1, length(yL)), DataSet_TMF_Gironde$TL)
> cluster = as.numeric(DataSet_TMF_Gironde$Taxon)
> Z = matrix(rep(1, length(yL)), ncol = 1)
> fit <- Imec(yL, cens, X, Z, cluster, method = 'ML', maxstep = 40)
> res <- cbind.data.frame(lowerbound = fit$beta - 1.96*diag(fit$varFix), estimate=fit$beta,
upperbound=fit$beta+1.96*diag(fit$varFix))
> TMF = 10^res[2,]
> TMF
> nbparam = length(fit$beta) + length(fit$bi) + 2
> AICmod = -2*fit$loglik + 2*(nbparam)
> AICcens_mod = AICmod + 2*(nbparam)*(nbparam+1)/(length(yL)-nbparam-1)
> AICcens_mod
```

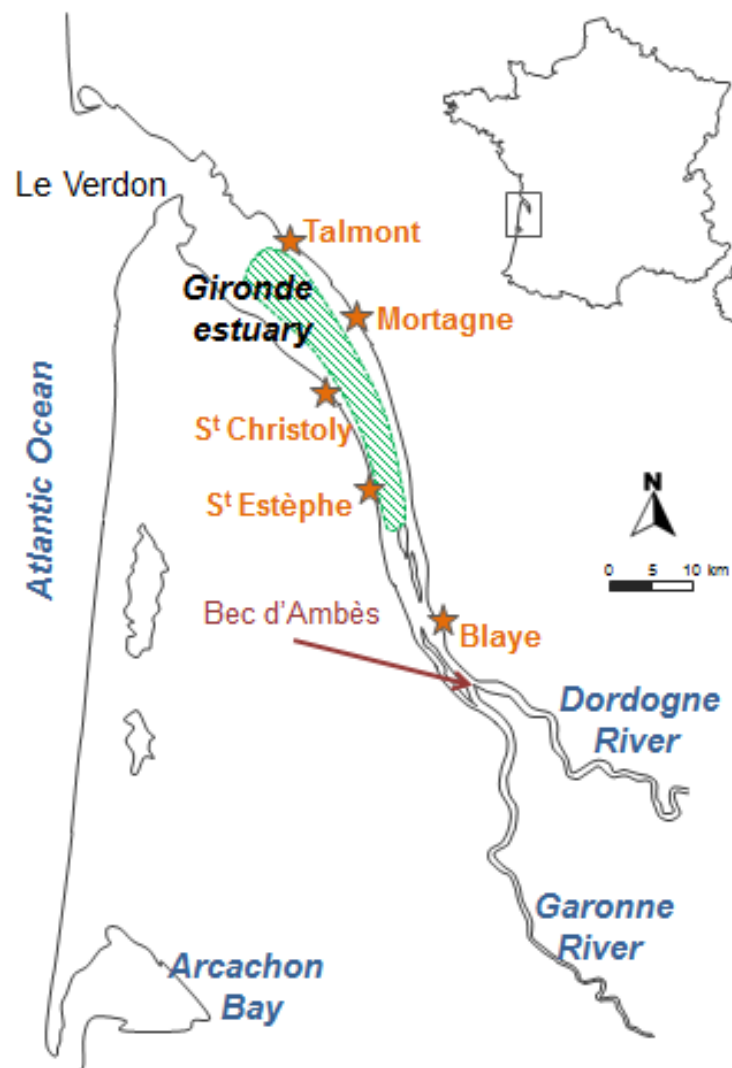


Fig.S1. General setting of the Gironde estuary (SW France), location of intertidal mudflats sampling sites (orange stars) (sampling of sediment + benthic invertebrates), and water/fish sampling zone (green hatched area).

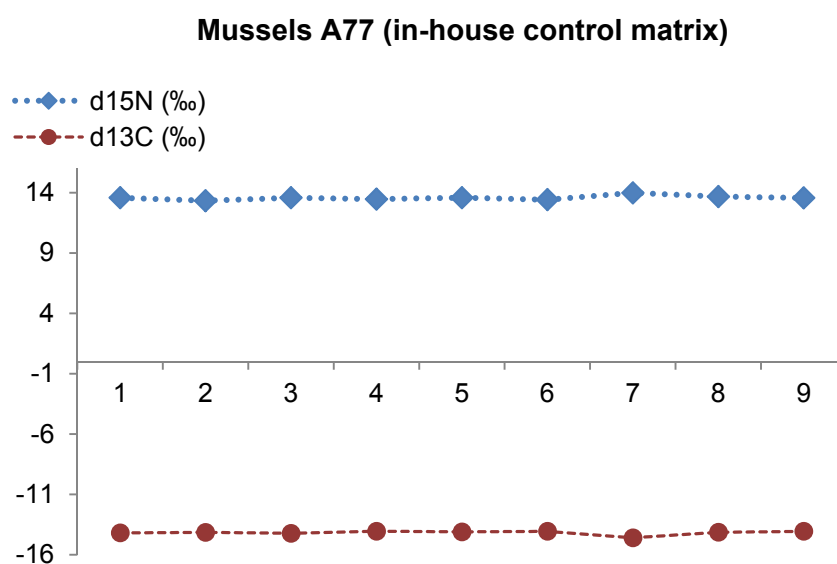


Fig.S2. Quality control chart of Mussels A77 in-house matrix for the analysis of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ (multibatch replicated measurements, $n = 9$).

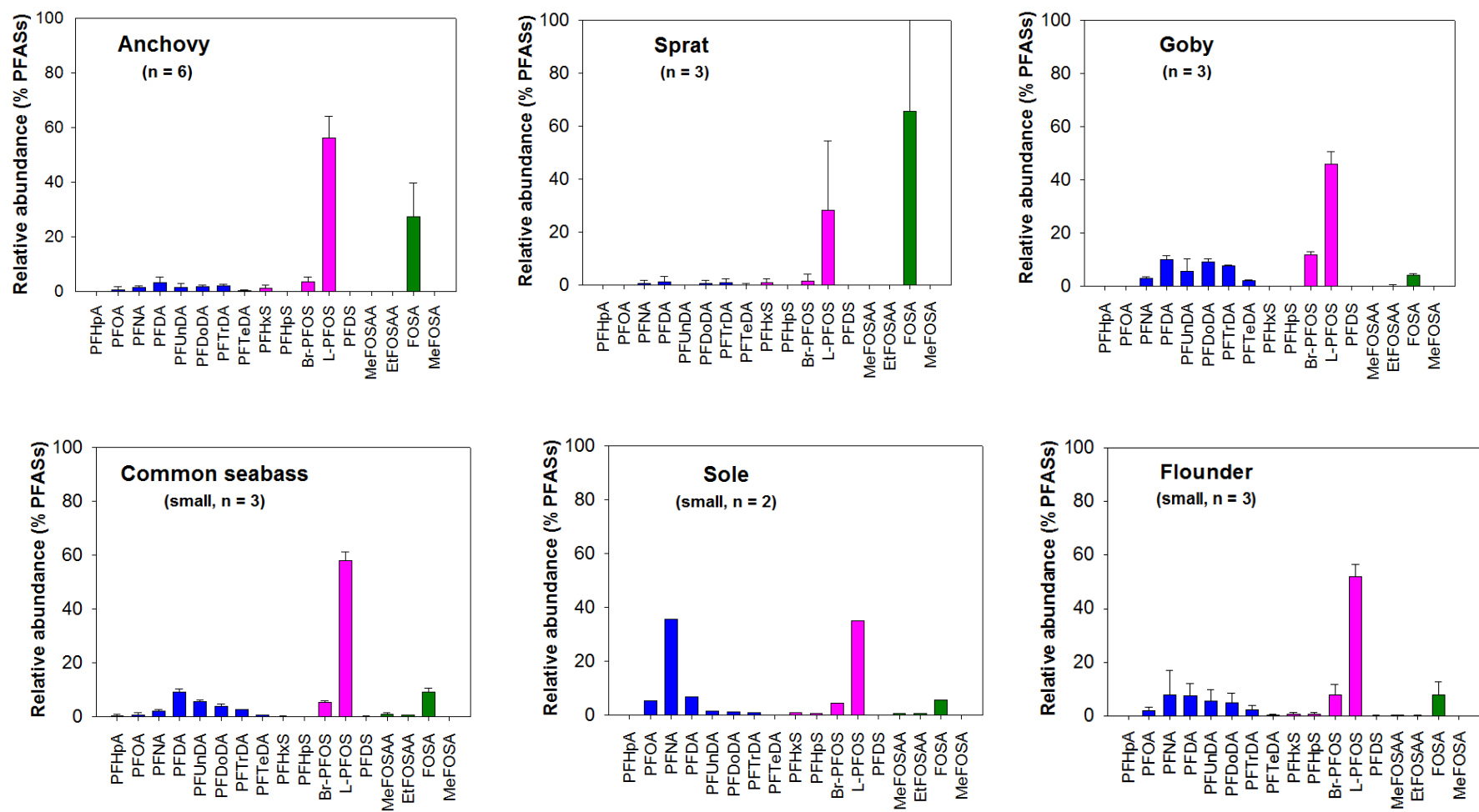


Fig.S3. Average abundance profiles of PFASs in biota samples.

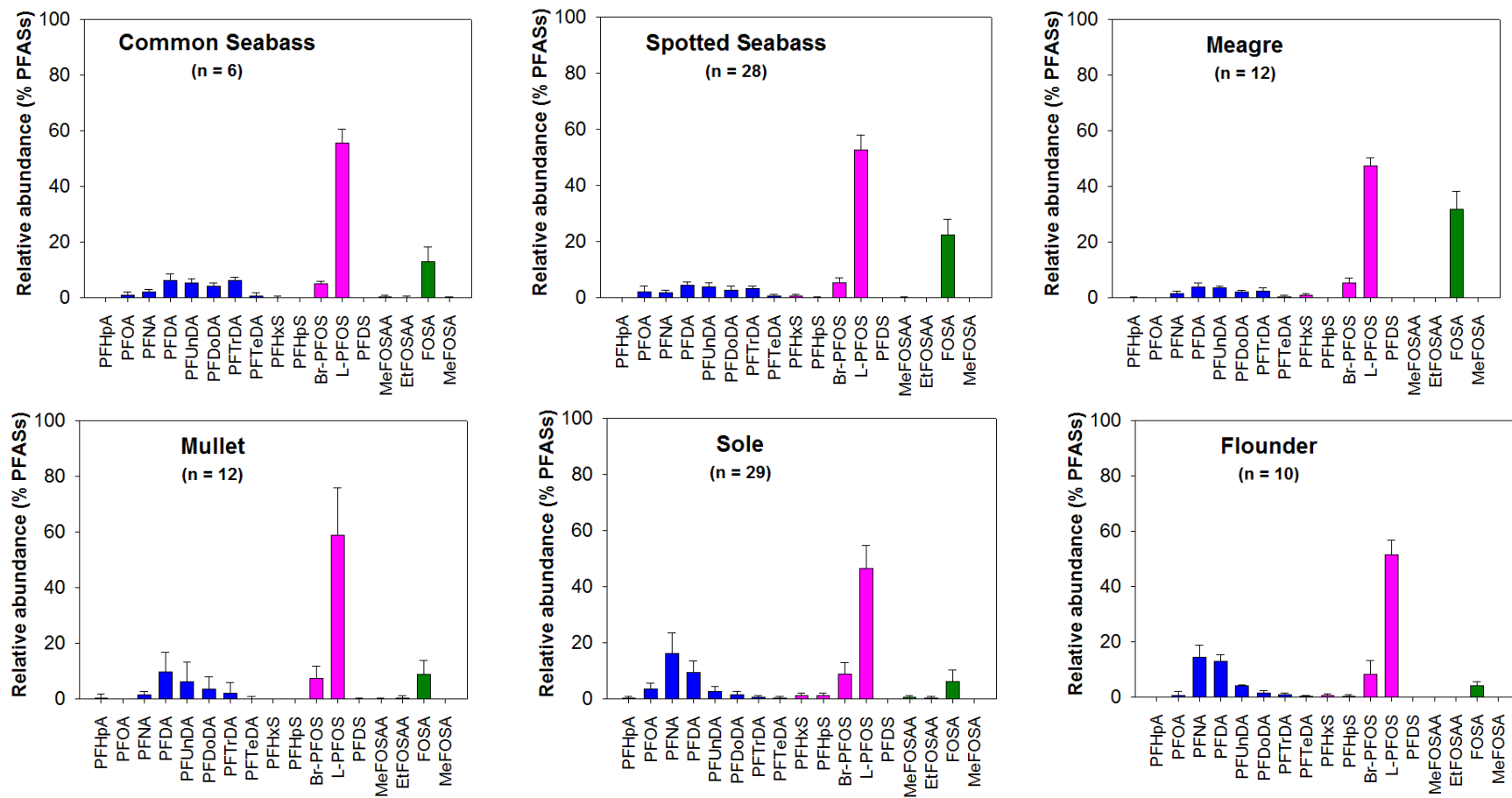


Fig.S3. (Continued).

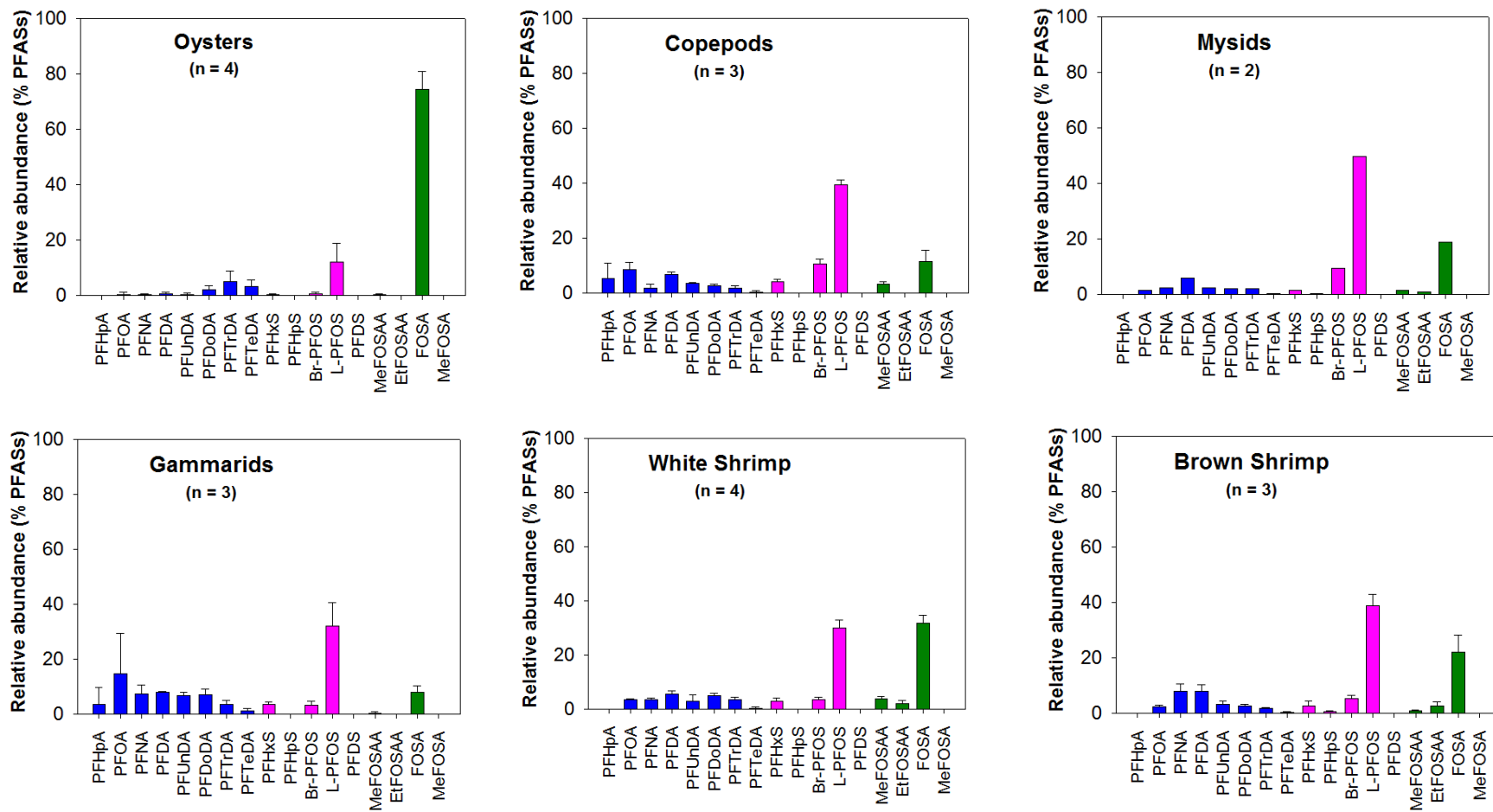


Fig.S3. (Continued).

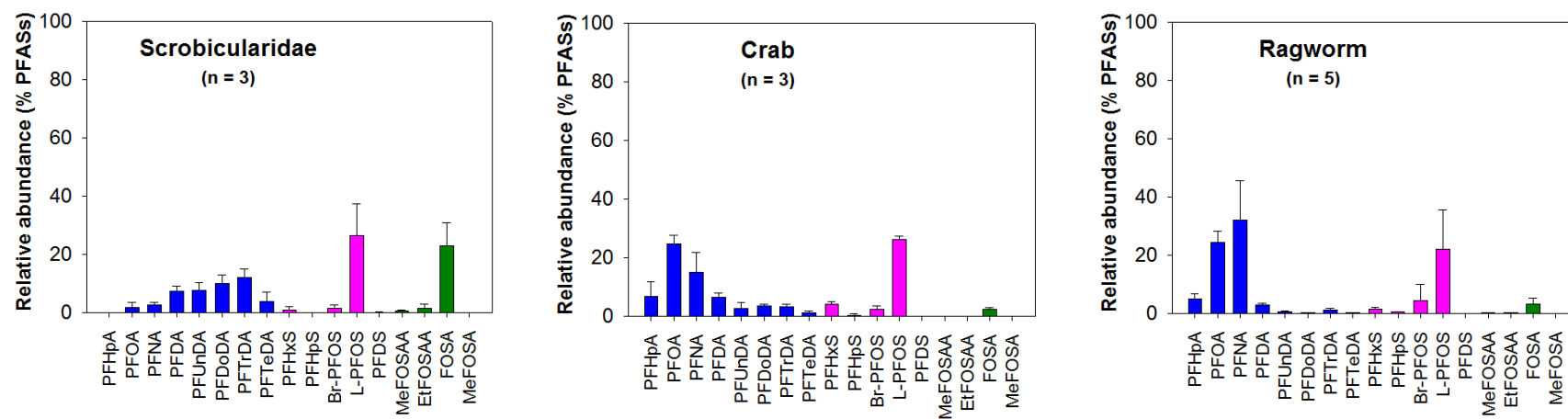


Fig.S3. (Continued).

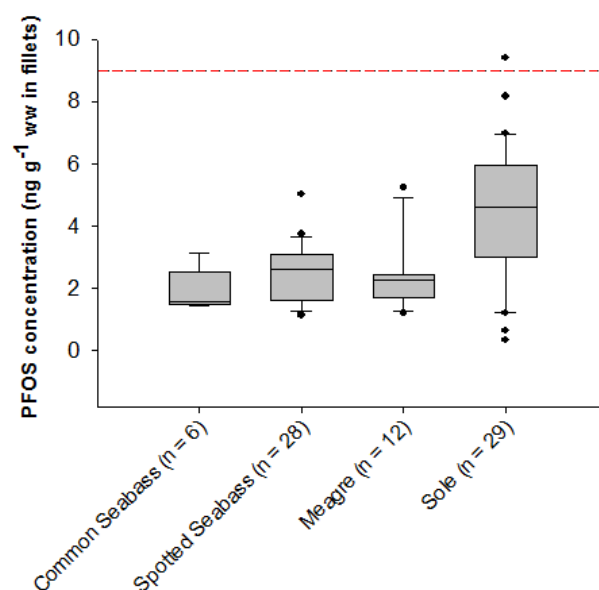


Fig.S4. Distribution of total PFOS concentrations (ng g⁻¹ ww) in fish fillets (juveniles excluded) of fishery interest, showing the current E.U. Environmental Quality Standard (EQS) for PFOS of 9.1 ng g⁻¹ ww (red dotted line).

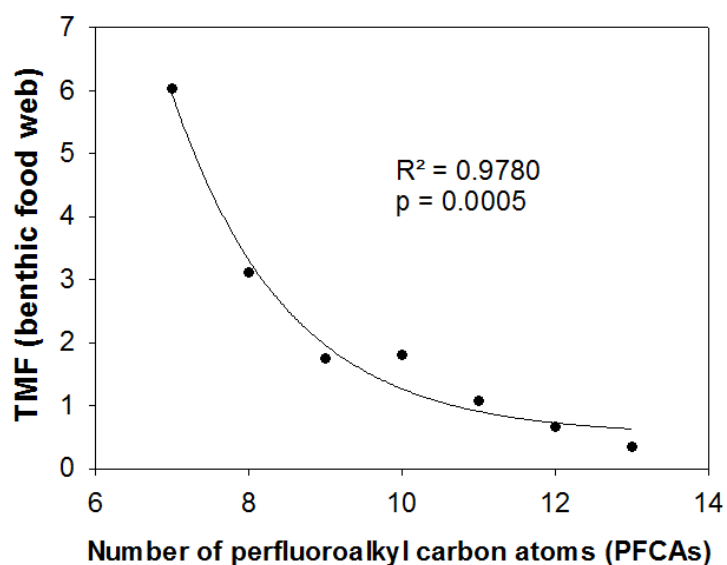


Fig.S5. Evolution of the trophic magnification factor (TMF) for the benthic food web (n = 67) against the number of perfluoroalkyl carbon atoms for perfluoroalkyl carboxylates (PFCAs) (PFOA through PFTeDA).

Table S1. List of PFAS compounds targeted in the present study and corresponding internal standards (ISs).

<i>Acronym</i>	Compound name	Molecular formula	CAS	Corresponding IS
PFBA	perfluoro-n-butanoic acid	C ₃ F ₇ COOH	375-22-4	[1,2- ¹³ C ₂] PFHxA
PFPeA	perfluoro-n-pentanoic acid	C ₄ F ₉ COOH	2706-90-3	[1,2- ¹³ C ₂] PFHxA
PFHxA	perfluoro-n-hexanoic acid	C ₅ F ₁₁ COOH	307-24-4	[1,2- ¹³ C ₂] PFHxA
PFHpA	perfluoro-n-heptanoic acid	C ₆ F ₁₃ COOH	375-85-9	[1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOA
PFOA	perfluoro-n-octanoic acid	C ₇ F ₁₅ COOH	335-67-1	[1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOA
PFNA	perfluoro-n-nonanoic acid	C ₈ F ₁₇ COOH	375-95-1	[1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOA
PFDA	perfluoro-n-decanoic acid	C ₉ F ₁₉ COOH	335-76-2	[1,2- ¹³ C ₂] PFDA
PFUnDA	perfluoro-n-undecanoic acid	C ₁₀ F ₂₁ COOH	2058-94-8	[1,2- ¹³ C ₂] PFUnDA
PFDoDA	perfluoro-n-dodecanoic acid	C ₁₁ F ₂₃ COOH	307-55-1	[1,2- ¹³ C ₂] PFDoDA
PFTrDA	perfluoro-n-tridecanoic acid	C ₁₂ F ₂₅ COOH	72629-94-8	[1,2- ¹³ C ₂] PFDoDA
PFTeDA	perfluoro-n-tetradecanoic acid	C ₁₃ F ₂₇ COOH	376-06-7	[1,2- ¹³ C ₂] PFDoDA
PFBS	perfluoro-1-butanedisulfonic acid	C ₄ F ₉ SO ₃ H	375-73-5	[1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOS
PFHxS	perfluoro-1-hexanedisulfonic acid	C ₆ F ₁₃ SO ₃ H	355-46-4	[1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOS
PFHpS	perfluoro-1-heptanedisulfonic acid	C ₇ F ₁₅ SO ₃ H	375-92-8	[1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOS
Br-PFOS	(cluster of branched PFOS isomers)	-	-	[1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOS
L-PFOS	n-perfluoro-1-octanedisulfonic acid	C ₈ F ₁₇ SO ₃ H	1763-23-1	[1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOS
PFDS	perfluoro-1-decanedisulfonic acid	C ₁₀ F ₂₁ SO ₃ H	355-77-3	[1,2,3,4- ¹³ C ₄] PFOS
MeFOSAA	2-(N-methylperfluorooctane sulfonamido) acetic acid	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(CH ₃)CH ₂ COOH	NA	D ₃ -N-MeFOSAA
EtFOSAA	2-(N-ethylperfluorooctane sulfonamido) acetic acid	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(C ₂ H ₅)CH ₂ COOH	NA	D ₃ -N-MeFOSAA
FOSA	perfluorooctane sulfonamide	C ₈ F ₁₇ SO ₂ NH ₂	754-91-6	[¹³ C ₈] FOSA
MeFOSA	N-methyl perfluorooctane sulfonamide	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(CH ₃)H	31506-32-8	D ₃ -N-MeFOSA
EtFOSA	N-ethyl perfluorooctane sulfonamide	C ₈ F ₁₇ SO ₂ N(C ₂ H ₅)H	4151-50-2	D ₅ -N-EtFOSA

Table S2. Conversion factors used to convert PFAS muscle concentrations into PFAS whole-body concentrations. For flatfish, 10 common sole samples of similar size (124–144 mm) were divided in two subsets of 5 individuals each for the determination of mean PFAS muscle concentrations (n = 5) and mean PFAS whole-body concentrations (n = 5), prior to the calculation of conversion factors (used for sole and flounder). Conversion factors for other fish were determined in a similar fashion, based on 10 spotted seabass samples (size : 75–93 mm).

	Sole	Spotted seabass
PFHpA	2.5	2.3
PFOA	1.4	1.8
PFNA	3.3	1.9
PFDA	2.8	2.4
PFUnDA	2.4	2.6
PFDoDA	1.9	2.4
PFTTrDA	1.7	2.6
PFTeDA	2.5	2.5
PFHxS	2.0	1.3
PFHpS	4.6	2.3
Br-PFOS	3.0	2.2
L-PFOS	2.4	2.3
PFDS	2.5	2.3
MeFOSAA	2.5	2.3
EtFOSAA	2.6	2.3
FOSA	2.3	2.9
MeFOSA	2.5	2.3

Table S3. Limits of detection (LODs).

	Water	Sediments	Biota
<i>n</i>	ng L ⁻¹	ng g ⁻¹ dw	ng g ⁻¹ ww
PFBA	0.2	NQ*	NQ
PFPeA	0.3	NQ	NQ
PFHxA	0.1	NQ	NQ
PFHpA	0.05	0.1	0.04
PFOA	0.08	0.1	0.06
PFNA	0.03	0.04	0.01
PFDA	0.07	0.05	0.04
PFUnDA	0.05	0.01	0.008
PFDoDA	0.09	0.007	0.004
PFTTrDA	0.06	0.006	0.006
PFTeDA	0.07	0.03	0.004
PFBS	0.02	0.008	0.01
PFHxS	0.02	0.007	0.02
PFHpS	0.003	0.004	0.01
Br-PFOS	0.01	0.007	0.004
L-PFOS	0.06	0.007	0.004
PFDS	0.04	0.001	0.005
MeFOSAA	NA**	0.001	0.002
EtFOSAA	NA**	0.003	0.003
FOSA	0.06	0.003	0.004
MeFOSA	0.09	0.008	0.004
EtFOSA	0.06	0.001	0.002

*NQ: short-chain PFCAAs were not targeted in sediment and biota samples. **NA: not available (N-alkylated perfluorooctane sulfonamide acetic acids were added later to the acquisition method).

Table S4. PFAS concentrations determined in the in-house control matrix (spotted seabass SSB#06) and NIST SRM 1947 reference sample (Lake Michigan trout). Concentrations are expressed in ng g⁻¹ wet weight (muscle).

	Spotted Seabass SSB#06 In-house control	NIST SRM 1947 Lake Trout Reference Sample	NIST SRM 1947 Reference* Reiner et al. 2012
N	3	4	
PFHpA	< LOD	0.059 ± 0.0073	-
PFOA	< LOD	0.084 ± 0.030	-
PFNA	0.067 ± 0.0051	0.18 ± 0.0076	0.20**
PFDA	0.14 ± 0.0057	0.19 ± 0.027	0.26**
PFUnDA	0.12 ± 0.0022	0.21 ± 0.020	0.28**
PFDODA	0.10 ± 0.0062	0.11 ± 0.012	-
PFTTrDA	0.12 ± 0.013	0.17 ± 0.015	0.20**
PFTeDA	0.032 ± 0.0058	0.060 ± 0.041	-
PFBS	< LOD	< LOD	-
PFHxS	< LOD	< LOD	-
PFHpS	< LOD	0.013	-
Br-PFOS	0.15 ± 0.013	0.58 ± 0.016	***
L-PFOS	2.39 ± 0.053	4.47 ± 0.10	***
PFDS	< LOD	0.062 ± 0.0084	-
MeFOSAA	< LOD	0.078 ± 0.011	-
EtFOSAA	< LOD	0.062	-
FOSA	0.53 ± 0.015	0.20 ± 0.019	-
MeFOSA	< LOD	< LOD	-
EtFOSA	< LOD	< LOD	-

*Reference: concentrations determined by Reiner et al. (2012) based on an international intercomparison exercise involving NIST, University of Toronto, Environment Canada, US EPA, 3M, Bundesamt fuer Seeschifffahrt und Hydrographie (Federal Maritime and Hydrographic Agency of Germany), and Wageningen IMARES (Institute of Marine Resources and Ecosystem Studies). **Information values. ***Calculated reference value for total PFOS (L-PFOS + Br-PFOS) = 5.90 ± 0.39 ng g⁻¹ ww.

Table S5. Values of the α (benthic) and $1 - \alpha$ (pelagic) coefficients used for the calculation of trophic levels.

		α	$1 - \alpha$
Invertebrates			
<i>Crassostrea gigas</i>	Oyster	-	-
<i>Scrobicularia plana</i>	Peppery furrow shell	-	-
<i>Carcinus maenas</i>	Shore crab	1	0
<i>Nereis diversicolor</i>	Ragworm	1	0
<i>Copepoda, ind.</i>	Copepods	0	1
<i>Mysidacea, ind.</i>	Mysids	0	1
<i>Gammarus spp.</i>	Gammarids	0	1
<i>Palaemon longirostris</i>	White shrimp	0	1
<i>Crangon crangon</i>	Brown shrimp	0	1
Fish			
<i>Pomatoschistus spp.</i>	Goby	0.05	0.95
<i>Engraulis encrasicolus</i>	Anchovy	0	1
<i>Sprattus sprattus</i>	Sprat	0	1
<i>Liza ramada</i>	Mullet	0.96	0.04
<i>Solea solea</i>	Sole	0.67	0.33
<i>Platichthys flesus</i>	Flounder	0.82	0.18
<i>Argyrosomus regius</i>	Meagre	0.44	0.56
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Common seabass	0.13*	0.87*
<i>Dicentrarchus punctatus</i>	Spotted seabass	0.23	0.77

*For adult individuals (juveniles of common seabass: $\alpha = 0.45$ and $1 - \alpha = 0.55$).

Table S6. Concentration range (min–max) of PFASs of subtidal water samples and intertidal sediment samples collected in 2012 in the Gironde estuary. When applicable, concentrations were blank-corrected.

	Concentration range (min–max)	
	Water	Sediment
n	6	5
PFBA	ND*–0.36	NQ**
PFPeA	0.77–1.3	NQ
PFHxA	0.50–1.1	NQ
PFHpA	0.40–0.84	0.03–0.09
PFOA	0.46–1.12	0.05–0.17
PFNA	0.12–0.37	0.03–0.12
PFDA	ND–0.37	0.10–0.19
PFUnDA	ND–0.09	0.07–0.12
PFDoDA	ND	0.05–0.12
PFTTrDA	ND	ND–0.14
PFTeDA	ND	ND–0.05
PFBS	0.17–0.48	ND
PFHxS	0.48–0.60	ND–0.02
PFHpS	ND–0.05	ND
Br-PFOS	0.40–0.60	0.01–0.05
L-PFOS	0.59–1.2	0.20–0.49
PFDS	ND	ND–0.01
MeFOSAA	NA***	ND–0.09
EtFOSAA	NA	ND–0.09
FOSA	ND–0.07	0.02–0.05
MeFOSA	ND	ND–0.01
EtFOSA	ND	ND
ΣPFASs	4.2–7.9	0.93–1.6

*ND: not detected. **NQ: not available (short-chain PFCAs not targeted in the sediment matrix). ***NA: not available (N-alkylated perfluorooctane sulfonamide acetic acids were added later to the acquisition method).

Table S7. Concentration range (min–max) of PFASs in biota samples from the Gironde estuary, expressed in ng g⁻¹ ww whole-body (w-b). When applicable, sample concentrations were blank-corrected.

		N	PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDODA	PFTTrDA	PFTeDA
Invertebrates										
<i>Crassostrea gigas</i>	Oyster	4	ND*	ND–0.016	ND–0.011	ND–0.015	ND–0.016	ND–0.039	ND–0.083	ND–0.060
<i>Scrobicularia plana</i>	Peppery furrow shell	3	ND	ND–0.033	0.021–0.049	0.053–0.13	0.046–0.14	0.063–0.18	0.12–0.17	ND–0.074
<i>Carcinus maenas</i>	Shore crab	3	0.22–1.4	1.7–3.0	0.76–2.3	0.53–0.70	ND–0.36	0.24–0.43	0.24–0.35	0.084–0.17
<i>Nereis diversicolor</i>	Ragworm	5	0.71–1.7	3.6–8.2	3.7–8.3	0.36–1.4	0.083–0.27	0.033–0.23	0.078–0.50	0.027–0.074
<i>Copepoda, ind.</i>	Copepods	3	ND–0.45	0.11–0.48	ND–0.11	0.13–0.30	0.070–0.15	0.058–0.094	0.033–0.097	ND–0.030
<i>Mysidacea, ind.</i>	Mysids	2	ND	0.076–0.096	0.10–0.17	0.36–0.38	0.15–0.16	0.12–0.17	0.12–0.14	ND–0.049
<i>Gammarus spp.</i>	Gammarids	3	ND–0.74	0.26–2.1	0.31–0.60	0.44–0.59	0.37–0.49	0.32–0.59	0.16–0.30	ND–0.13
<i>Palaemon longirostris</i>	White shrimp	4	ND	0.12–0.41	0.13–0.41	0.24–0.65	ND–0.54	0.22–0.51	0.089–0.43	ND–0.14
<i>Crangon crangon</i>	Brown shrimp	3	ND	0.31–0.46	0.82–2.1	1.1–1.3	0.46–0.59	0.32–0.57	0.15–0.39	ND–0.13
Fish										
<i>Pomatoschistus spp.</i>	Goby	3	ND	ND	0.13–0.15	0.45–0.49	ND–0.43	0.36–0.49	0.30–0.39	0.087–0.12
<i>Engraulis encrasicolus</i>	Anchovy	6	ND	ND–0.12	0.023–0.14	0.024–0.40	ND–0.22	0.04–0.17	0.05–0.16	ND–0.04
<i>Sprattus sprattus</i>	Sprat	3	ND	ND	ND–0.15	ND–0.25	ND	ND–0.14	ND–0.18	ND–0.042
<i>Liza ramada</i>	Mullet	12	ND–0.18	ND	ND–0.25	ND–3.6	ND–4.0	ND–2.8	ND–2.4	ND–0.35
<i>Solea solea</i>	Sole	31	ND–0.39	0.017–2.5	0.21–12	0.38–4.1	0.066–1.3	0.023–0.69	ND–0.46	ND–0.20
<i>Platichthys flesus</i>	Flounder	13	ND–0.050	ND–1.6	0.24–7.9	0.16–2.5	0.051–1.9	ND–1.7	ND–0.75	ND–0.14
<i>Argyrosomus regius</i>	Meagre	12	ND–0.098	ND	ND–0.28	0.16–1.1	0.21–0.75	ND–0.45	ND–0.53	ND–0.22
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Common seabass	9	ND–0.16	ND–0.24	0.053–0.51	0.24–2.3	0.26–1.4	0.16–1.1	0.31–0.59	ND–0.22
<i>Dicentrarchus punctatus</i>	Spotted seabass	28	ND	ND–0.74	ND–0.65	0.11–0.78	0.13–1.0	ND–0.70	0.066–0.66	ND–0.17

*ND: not detected

Table S7. (Continued).

		N	PFHxS	PFHpS	Br-PFOS	L-PFOS	PFDS	MeFOSAA	EtFOSAA	FOSA	MeFOSA	ΣPFASs
Invertebrates												
<i>Crassostrea gigas</i>	Oyster	4	ND*–0.0056	ND	ND–0.013	0.085–0.15	ND	ND–0.0061	ND	0.45–0.85	ND	0.66–1.2
<i>Scrobicularia plana</i>	Peppery furrow shell	3	ND–0.019	ND	ND–0.026	0.18–0.53	ND–0.0041	ND–0.014	ND–0.027	0.19–0.31	ND	0.89–1.3
<i>Carcinus maenas</i>	Shore crab	3	0.26–0.59	ND–0.065	0.10–0.45	1.75–3.0	ND–0.013	ND–0.010	ND	0.20–0.24	ND	6.4–11
<i>Nereis diversicolor</i>	Ragworm	5	0.21–1.17	0.070–0.34	0.24–6.6	2.0–21	0.0039–0.058	0.037–0.066	ND–0.066	0.39–0.78	ND	13.7–45
<i>Copepoda, ind.</i>	Copepods	3	0.097–0.14	ND	0.23–0.37	0.76–1.6	ND	0.078–0.099	ND	0.26–0.44	ND	1.8–4.1
<i>Mysidacea, ind.</i>	Mysids	2	ND–0.25	ND–0.050	0.51–0.66	2.4–3.8	ND	0.089–0.099	0.061–0.071	0.86–1.5	ND	5.0–7.5
<i>Gammarus spp.</i>	Gammarids	3	0.19–0.33	ND	0.10–0.31	1.5–2.8	ND	ND–0.058	ND	0.35–0.67	ND	5.6–7.2
<i>Palaemon longirostris</i>	White shrimp	4	0.16–0.33	ND	0.13–0.48	1.2–3.0	ND	0.091–0.47	ND–0.28	1.1–3.6	ND	3.4–10
<i>Crangon crangon</i>	Brown shrimp	3	0.23–0.49	ND–0.18	0.62–1.1	3.8–8.0	ND–0.04	0.10–0.21	0.33–0.43	1.5–5.4	ND	10–20
Fish												
<i>Pomatoschistus spp.</i>	Goby	3	ND	ND	0.44–0.67	2.0–2.4	ND	ND	ND–0.027	0.18–0.19	ND	4.0–5.1
<i>Engraulis encrasicolus</i>	Anchovy	6	ND–0.15	ND	ND–0.39	1.6–6.3	ND	ND	ND–0.032	0.88–2.22	ND	3.4–9.9
<i>Sprattus sprattus</i>	Sprat	3	ND–0.17	ND	ND–0.30	0.28–3.8	ND	ND	ND	1.7–4.7	ND	3.5–6.8
<i>Liza ramada</i>	Mullet	12	ND	ND	ND–0.52	0.77–4.0	ND–0.068	ND–0.064	ND–0.12	0.13–0.77	ND	0.96–17
<i>Solea solea</i>	Sole	31	ND–1.3	ND–1.1	0.16–4.4	0.65–19.2	ND–0.073	ND–0.58	ND–0.34	0.10–2.4	ND	1.8–38
<i>Platichthys flesus</i>	Flounder	13	ND–0.65	ND–0.59	ND–5.1	0.75–22	ND–0.077	ND–0.094	ND–0.077	0.057–3.8	ND	1.4–44
<i>Argyrosomus regius</i>	Meagre	12	ND–0.22	ND–0.12	0.24–1.3	2.5–11	ND	ND–0.049	ND	2.3–5.4	ND	5.7–21
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Common seabass	9	ND–0.12	ND	0.20–1.2	3.0–14	ND–0.06	ND–0.29	ND–0.13	0.43–2.2	ND–0.052	4.8–23
<i>Dicentrarchus punctatus</i>	Spotted seabass	28	ND–0.31	ND–0.11	0.18–1.2	2.2–10	ND–0.028	ND–0.063	ND	1.0–4.2	ND–0.080	5.1–17

*ND: not detected

Table S8. Summary of bioaccumulation factors (BAFs) (mean \pm SD). $BAF = C_{\text{biota}} \text{ (ng kg}^{-1} \text{ ww w-b)} / C_{\text{water}} \text{ (ng L}^{-1}\text{)}$. Average BAFs > 5000 are highlighted in bold red font.

BAFs		PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFHxS	Br-PFOS	L-PFOS	FOSA
Invertebrates									
<i>Crassostrea gigas</i>	Oyster	20	48	89	1030	10	22 \pm 3	122 \pm 30	29590 \pm 7800
<i>Copepoda, ind.</i>	Copepods	358 \pm 230	447	1270 \pm 510	6930 \pm 2640	217 \pm 36	611 \pm 152	1380 \pm 480	13240 \pm 3960
<i>Mysidacea, ind.</i>	Mysids	108	611	2240	9900	461	1136	3560	48500
<i>Gammarus spp.</i>	Gammarids	1250 \pm 1260	2080 \pm 640	3200 \pm 480	28100 \pm 4050	436 \pm 145	407 \pm 202	2380 \pm 710	20800 \pm 6400
<i>Palaemon longirostris</i>	White shrimp	377 \pm 161	1380 \pm 562	2850 \pm 1030	26900 \pm 7050	448 \pm 125	568 \pm 283	2803 \pm 1010	108400 \pm 45100
<i>Crangon crangon</i>	Brown shrimp	458 \pm 103	5660 \pm 2980	7370 \pm 583	32770 \pm 4400	697 \pm 242	1660 \pm 454	7110 \pm 2480	151200 \pm 80300
Fish									
<i>Pomatoschistus spp.</i>	Goby	NA*	635 \pm 38	2840 \pm 140	25670	NA	1080 \pm 230	2400 \pm 270	7430 \pm 320
<i>Engraulis encrasicolus</i>	Anchovy	153	455 \pm 203	1360 \pm 920	11300 \pm 5400	211 \pm 49	564 \pm 196	4050 \pm 1970	60900 \pm 17500
<i>Sprattus sprattus</i>	Sprat	NA	645	1490	NA	315	581	1860 \pm 2180	122200 \pm 61900
<i>Liza ramada</i>	Mullet	NA	650 \pm 314	5700 \pm 6480	54400 \pm 84700	NA	680 \pm 174	2820 \pm 1190	14500 \pm 7700
<i>Argyrosomus regius</i>	Meagre	NA	820 \pm 315	2720 \pm 1750	25100 \pm 8900	248 \pm 93	1150 \pm 710	5740 \pm 2400	131000 \pm 38800
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Common seabass	178 \pm 105	1080 \pm 703	5710 \pm 4760	40200 \pm 27200	211	1200 \pm 770	7490 \pm 4780	52900 \pm 28200
<i>Dicentrarchus punctatus</i>	Spotted seabass	343 \pm 266	786 \pm 671	2510 \pm 1006	23640 \pm 10690	272 \pm 170	1022 \pm 573	5830 \pm 2190	85700 \pm 31800

*NA: not available.

Table S9. Summary of biota to sediment accumulation factors (BSAFs) (mean \pm SD). BSAF = C_{biota} (ng g⁻¹ ww w-b) / C_{sediment} (ng g⁻¹ dw).

BSAF	Peppery furrow shell	Shore Crab	Ragworm	Sole	Flounder
PFHpA	NA*	13 \pm 12	19 \pm 7	2.6 \pm 2.3	0.91
PFOA	0.23	20 \pm 6	45 \pm 16	6.7 \pm 5.0	3.2 \pm 4.6
PFNA	0.38 \pm 0.19	17 \pm 10	74 \pm 24	45 \pm 34	14 \pm 25
PFDA	0.66 \pm 0.29	4.5 \pm 0.76	5.6 \pm 3.1	14 \pm 7	7.6 \pm 6.4
PFUnDA	0.93 \pm 0.48	3.2	1.6 \pm 0.86	4.5 \pm 2.3	4.9 \pm 6.3
PFDODA	1.5 \pm 0.74	4.4 \pm 1.3	1.2 \pm 1.0	3.3 \pm 1.6	5.3 \pm 7.6
PFTTrDA	2.9 \pm 0.58	6.0 \pm 1.3	5.5 \pm 3.6	4.3 \pm 1.9	5.2 \pm 6.0
PFTeDA	3.0	5.7 \pm 2.1	2.5 \pm 1.1	4.8 \pm 2.4	4.2 \pm 1.9
PFHxS	1.6	40 \pm 17	42 \pm 41	28 \pm 26	20 \pm 22
Br-PFOS	0.73	7.9 \pm 6.5	55 \pm 96	63 \pm 42	42 \pm 50
L-PFOS	0.84 \pm 0.49	6.4 \pm 1.6	17 \pm 22	26 \pm 12	15 \pm 18
PFDS	1.2	3.0	4.9 \pm 7.0	14 \pm 4.3	19
MeFOSAA	0.44	0.41	2.4 \pm 0.57	7.8 \pm 4.6	3.2 \pm 0.75
EtFOSAA	0.63	NA	1.6 \pm 0.14	4.8 \pm 1.9	1.7
FOSA	7.8 \pm 1.9	6.9 \pm 0.68	18 \pm 5	36 \pm 21	22 \pm 38

*NA: not available.

Table S10. Summary of biomagnification factors (BMF) (mean \pm standard deviation), calculated as $BMF = C_{\text{predator}} / C_{\text{prey}}$ (provided that DF = 100 %).

Predator/prey	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDODA	PFTTrDA	PFTTeDA	Br-PFOS	L-PFOS	MeFOSAA	FOSA
Sole**/Gammarids	NA*	6.9 \pm 4.7	3.4 \pm 1.8	1.0 \pm 0.54	0.55 \pm 0.28	NA	NA	8.9 \pm 5.9	4.6 \pm 2.1	NA	2.2 \pm 1.3
Sole**/Ragworm	NA	0.54 \pm 0.37	2.5 \pm 1.3	2.8 \pm 1.5	2.8 \pm 1.5	NA	NA	1.2 \pm 0.78	1.5 \pm 0.69	NA	1.9 \pm 1.1
Flounder**/Ragworm	NA	0.10 \pm 0.070	0.93 \pm 0.89	1.4 \pm 1.6	NA	NA	NA	NA	0.40 \pm 0.40	NA	0.28 \pm 0.17
Sole**/Scrobicularidae	NA	105 \pm 71	21 \pm 11	4.9 \pm 2.6	2.1 \pm 1.1	NA	NA	NA	31 \pm 14	NA	4.5 \pm 2.7
Flounder**/Scrobicularidae	NA	19 \pm 14	7.9 \pm 7.5	2.4 \pm 2.8	NA	NA	NA	NA	8.1 \pm 8.3	NA	0.65 \pm 0.40
Mysids/Copepods	0.30	2.0	1.8	1.4	1.8	2.2	NA	1.9	2.6	1.0	3.7
Anchovy/Copepods	NA	1.5 \pm 0.68	1.1 \pm 0.72	NA	1.4 \pm 0.74	2.0 \pm 0.76	NA	NA	2.9 \pm 1.4	NA	4.6 \pm 1.3
Sprat/Copepods	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.3 \pm 1.6	NA	9.2 \pm 4.7
Goby/Copepods	NA	2.1 \pm 0.13	2.2 \pm 0.11	NA	5.2 \pm 0.80	6.0 \pm 0.81	10 \pm 1.5	1.8 \pm 0.37	1.7 \pm 0.19	NA	0.56 \pm 0.024
Spotted seabass/Copepods	NA	NA	2.0 \pm 0.79	3.4 \pm 1.5	NA	5.2 \pm 2.1	NA	1.7 \pm 0.94	4.2 \pm 1.6	NA	6.5 \pm 2.4
Common seabass/Copepods	NA	3.6 \pm 2.4	4.5 \pm 3.7	5.8 \pm 3.9	6.1 \pm 4.1	7.8 \pm 1.8	NA	2.0 \pm 1.3	5.4 \pm 3.5	NA	4.0 \pm 2.1
Meagre/Copepods	NA	NA	2.1 \pm 1.4	3.6 \pm 1.3	NA	NA	NA	1.9 \pm 1.2	4.2 \pm 1.7	NA	9.9 \pm 2.9
White shrimp/Mysids	3.5 \pm 1.5	2.3 \pm 0.92	1.3 \pm 0.46	NA	3.0 \pm 0.98	2.4 \pm 1.2	NA	0.50 \pm 0.25	0.79 \pm 0.28	3.7 \pm 1.9	2.2 \pm 0.93
Anchovy/Mysids	NA	0.75 \pm 0.33	0.61 \pm 0.41	NA	0.79 \pm 0.42	0.92 \pm 0.34	NA	NA	1.1 \pm 0.55	NA	1.3 \pm 0.36
Sprat/Mysids	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.52 \pm 0.61	NA	2.5 \pm 1.3
Goby/Mysids	NA	1.0 \pm 0.062	1.3 \pm 0.064	NA	3.0 \pm 0.46	2.7 \pm 0.37	NA	0.95 \pm 0.20	0.68 \pm 0.075	NA	0.15 \pm 0.0066
Spotted seabass/Mysids	NA	NA	1.1 \pm 0.45	2.4 \pm 1.1	NA	2.3 \pm 0.93	NA	0.90 \pm 0.50	1.6 \pm 0.62	NA	1.8 \pm 0.65
Common seabass/Mysids	NA	1.8 \pm 1.2	2.6 \pm 2.1	4.1 \pm 2.7	3.4 \pm 2.3	3.5 \pm 0.80	NA	1.1 \pm 0.68	2.1 \pm 1.3	NA	1.1 \pm 0.58
Meagre/Mysids	NA	NA	1.2 \pm 0.78	2.5 \pm 0.90	NA	NA	NA	1.0 \pm 0.62	1.6 \pm 0.68	NA	2.7 \pm 0.80
Spotted seabass/White shrimp	NA	NA	0.88 \pm 0.35	NA	NA	0.97 \pm 0.39	NA	1.8 \pm 1.0	2.1 \pm 0.78	NA	0.79 \pm 0.29
Common seabass/White shrimp	NA	0.78 \pm 0.51	2.0 \pm 1.7	NA	1.2 \pm 0.77	1.5 \pm 0.33	NA	2.1 \pm 1.4	2.7 \pm 1.7	NA	0.49 \pm 0.26
Meagre/White shrimp	NA	NA	0.96 \pm 0.62	NA	NA	NA	NA	2.0 \pm 1.2	2.0 \pm 0.9	NA	1.2 \pm 0.36
Spotted seabass/Sprat	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3.1 \pm 1.2	NA	0.70 \pm 0.26
Common seabass/Sprat	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.0 \pm 2.6	NA	0.43 \pm 0.23
Meagre/Sprat	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3.1 \pm 1.3	NA	1.1 \pm 0.32
Spotted seabass/Anchovy	NA	NA	1.8 \pm 0.74	3.1 \pm 1.4	NA	2.5 \pm 1.0	NA	NA	1.4 \pm 0.54	NA	1.4 \pm 0.52
Common seabass/Anchovy	NA	2.4 \pm 1.5	4.2 \pm 3.5	5.3 \pm 3.6	4.4 \pm 2.9	3.8 \pm 0.87	NA	NA	1.9 \pm 1.2	NA	0.87 \pm 0.46
Meagre/Anchovy	NA	NA	2.0 \pm 1.3	3.3 \pm 1.2	NA	NA	NA	NA	1.4 \pm 0.59	NA	2.2 \pm 0.64
Spotted seabass/Goby	NA	NA	0.88 \pm 0.35	1.3 \pm 0.60	NA	0.87 \pm 0.35	NA	0.95 \pm 0.53	2.4 \pm 0.91	NA	12 \pm 4.3
Common seabass/Goby	NA	1.7 \pm 1.1	2.0 \pm 1.7	2.3 \pm 1.5	1.2 \pm 0.77	1.3 \pm 0.30	NA	1.1 \pm 0.72	3.1 \pm 2.0	NA	7.1 \pm 3.8
Meagre/Goby	NA	NA	0.96 \pm 0.62	1.4 \pm 0.50	NA	NA	NA	1.1 \pm 0.66	2.4 \pm 1.0	NA	18 \pm 5.2

*NA: not available. **juveniles excluded.

Table S11. Summary of biomagnification factors corrected for trophic level (BMF_{TL}) (mean \pm standard deviation), calculated as $BMF_{TL} = (C_{predator} / TL_{predator}) / (C_{prey} / TL_{prey})$, provided that DF = 100 %.

Predator/prey	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTTrDA	PFTeDA	Br-PFOS	L-PFOS	MeFOSAA	FOSA
Sole**/Gammarids	NA*	4.6 \pm 2.9	2.3 \pm 1.2	0.68 \pm 0.36	0.37 \pm 0.19	NA	NA	6.1 \pm 4.4	3.1 \pm 1.4	NA	1.4 \pm 0.84
Sole**/Ragworm	NA	0.39 \pm 0.25	1.8 \pm 0.96	2.0 \pm 1.1	2.1 \pm 1.1	NA	NA	0.89 \pm 0.64	1.1 \pm 0.51	NA	1.4 \pm 0.80
Flounder**/Ragworm	NA	0.082 \pm 0.052	0.75 \pm 0.67	1.1 \pm 1.2	NA	NA	NA	NA	0.32 \pm 0.30	NA	0.23 \pm 0.14
Sole**/Scrobicularidae	NA	53 \pm 33	11 \pm 5.7	2.5 \pm 1.3	1.1 \pm 0.58	NA	NA	NA	16 \pm 7.3	NA	2.3 \pm 1.3
Flounder**/Scrobicularidae	NA	11 \pm 7.0	4.5 \pm 4.0	1.4 \pm 1.5	NA	NA	NA	NA	4.6 \pm 4.3	NA	0.38 \pm 0.23
Mysids/Copepods	0.37	2.6	2.1	1.7	2.0	2.6	NA	2.2	2.9	1.2	4.1
Anchovy/Copepods	NA	1.6 \pm 0.67	1.1 \pm 0.73	NA	1.5 \pm 0.71	2.2 \pm 0.73	NA	NA	3.1 \pm 1.3	NA	5.1 \pm 1.5
Sprat/Copepods	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.4 \pm 1.7	NA	9.4 \pm 4.7
Goby/Copepods	NA	2.2 \pm 0.13	2.3 \pm 0.15	NA	5.4 \pm 0.78	6.2 \pm 0.70	11 \pm 1.3	1.8 \pm 0.33	1.8 \pm 0.16	NA	0.58 \pm 0.039
Spotted seabass/Copepods	NA	NA	1.7 \pm 0.71	3.0 \pm 1.5	NA	4.6 \pm 2.0	NA	1.5 \pm 0.88	3.7 \pm 1.5	NA	5.6 \pm 2.0
Common seabass/Copepods	NA	3.4 \pm 2.5	4.3 \pm 4.1	5.5 \pm 4.6	5.8 \pm 4.9	7.0 \pm 2.3	NA	1.8 \pm 1.4	5.2 \pm 4.1	NA	3.6 \pm 2.2
Meagre/Copepods	NA	NA	1.8 \pm 1.2	3.1 \pm 1.1	NA	NA	NA	1.6 \pm 1.0	3.5 \pm 1.5	NA	8.4 \pm 2.4
White shrimp/Mysids	4.1 \pm 0.47	2.6 \pm 0.41	1.4 \pm 0.21	NA	3.4 \pm 0.093	2.9 \pm 0.48	NA	0.58 \pm 0.18	0.91 \pm 0.078	4.5 \pm 0.36	2.6 \pm 0.41
Anchovy/Mysids	NA	0.70 \pm 0.29	0.57 \pm 0.37	NA	0.75 \pm 0.36	0.89 \pm 0.29	NA	NA	1.1 \pm 0.45	NA	1.2 \pm 0.36
Sprat/Mysids	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.49 \pm 0.58	NA	2.3 \pm 1.1
Goby/Mysids	NA	0.97 \pm 0.059	1.2 \pm 0.074	NA	2.8 \pm 0.39	3.9 \pm 0.48	NA	0.88 \pm 0.16	0.63 \pm 0.055	NA	0.14 \pm 0.0094
Spotted seabass/Mysids	NA	NA	0.87 \pm 0.36	1.9 \pm 0.92	NA	1.8 \pm 0.80	NA	0.71 \pm 0.43	1.3 \pm 0.52	NA	1.4 \pm 0.50
Common seabass/Mysids	NA	1.5 \pm 1.1	2.2 \pm 2.1	3.5 \pm 2.9	2.9 \pm 2.5	2.8 \pm 0.90	NA	0.88 \pm 0.68	1.8 \pm 1.4	NA	0.88 \pm 0.52
Meagre/Mysids	NA	NA	0.92 \pm 0.59	1.9 \pm 0.66	NA	NA	NA	0.77 \pm 0.49	1.2 \pm 0.51	NA	2.0 \pm 0.59
Spotted seabass/White shrimp	NA	NA	0.70 \pm 0.29	NA	NA	0.78 \pm 0.34	NA	1.5 \pm 0.87	1.7 \pm 0.68	NA	0.63 \pm 0.23
Common seabass/White shrimp	NA	0.67 \pm 0.48	1.8 \pm 1.7	NA	1.0 \pm 0.84	1.2 \pm 0.38	NA	1.8 \pm 1.4	2.3 \pm 1.8	NA	0.41 \pm 0.24
Meagre/White shrimp	NA	NA	0.74 \pm 0.47	NA	NA	NA	NA	1.6 \pm 1.0	1.6 \pm 0.67	NA	0.94 \pm 0.27
Spotted seabass/Sprat	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.7 \pm 1.1	NA	0.59 \pm 0.21
Common seabass/Sprat	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3.7 \pm 3.0	NA	0.38 \pm 0.23
Meagre/Sprat	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.5 \pm 1.1	NA	0.88 \pm 0.25
Spotted seabass/Anchovy	NA	NA	1.5 \pm 0.61	2.5 \pm 1.2	NA	2.0 \pm 0.89	NA	NA	1.2 \pm 0.47	NA	1.1 \pm 0.41
Common seabass/Anchovy	NA	2.0 \pm 1.5	3.7 \pm 3.5	4.7 \pm 3.9	3.8 \pm 3.1	3.1 \pm 1.0	NA	NA	1.6 \pm 1.3	NA	0.72 \pm 0.43
Meagre/Anchovy	NA	NA	1.6 \pm 0.99	2.6 \pm 0.89	NA	NA	NA	NA	1.1 \pm 0.45	NA	1.7 \pm 0.48
Spotted seabass/Goby	NA	NA	0.74 \pm 0.31	1.1 \pm 0.55	NA	0.74 \pm 0.32	NA	0.81 \pm 0.48	2.0 \pm 0.83	NA	9.6 \pm 3.5
Common seabass/Goby	NA	1.5 \pm 1.1	1.9 \pm 1.8	2.1 \pm 1.7	1.1 \pm 0.89	1.1 \pm 0.36	NA	1.0 \pm 0.78	2.8 \pm 2.2	NA	6.2 \pm 3.7
Meagre/Goby	NA	NA	0.78 \pm 0.50	1.2 \pm 0.40	NA	NA	NA	0.88 \pm 0.55	1.9 \pm 0.81	NA	14 \pm 4.1

*NA: not available. **juveniles excluded.

Table S12. TMF values determined via *cenken*. Details on regressions of Log C (concentrations expressed in ng g⁻¹ ww whole body) Vs TL (trophic level) in the benthic and demersal foodwebs, obtained with the *cenken* function of the NADA R-package, including the p-value of the regression, Kendall's τ correlation coefficient, the slope of the Akritas-Theil-Shen line, and the resulting trophic magnification factor (TMF = 10^{slope}). Struck-through numbers indicate non-significant regressions (p > 0.05).

Cenken Regression, BENTHIC food web (N = 67)					Cenken Regression, DEMERSAL food web (N = 80)			
	p-value	τ	slope	TMF _{BENTHIC}	p-value	τ	slope	TMF _{DEMERSAL}
PFOA	0.016	0.20	0.68	4.8	0.59	-0.04	0	1.0
PFNA	<0.0001	0.34	0.83	6.7	0.57	-0.04	-0.05	0.88
PFDA	<0.0001	0.34	0.45	2.8	0.58	0.04	0.05	1.1
PFUnDA	0.001	0.28	0.33	2.1	0.08	0.13	0.15	1.4
PFDODA	0.03	0.18	0.23	1.7	0.86	-0.01	-0.02	0.9
PFTTrDA	0.78	0.02	0.026	1.0	0.07	0.14	0.13	1.3
PFTeDA	0.68	-0.03	-0.073	0.85	0.54	0.05	0.09	1.2
PFHxS	0.004	0.23	0.61	4.1	0.24	-0.09	-0.21	0.6
Br-PFOS	<0.0001	0.37	0.67	4.6	0.11	0.12	0.14	1.4
L-PFOS	<0.0001	0.38	0.55	3.6	0.0002	0.29	0.26	1.8
MeFOSAA	NA*	NA	NA	NA	0.049	-0.14	-0.96	0.11
FOSA	<0.0001	0.36	0.47	2.9	0.0002	0.28	0.26	1.8

*NA: not available.

ANNEXES DU CHAPITRE VI.1

Validation d'une méthode d'analyse de PFAS zwitterioniques, cationiques, neutres et anioniques dans les sédiments – Etude préliminaire de l'occurrence de PFAS d'intérêt émergent en France métropolitaine

Analysis of Zwitterionic, Cationic, and Anionic Poly- and Perfluoroalkyl Surfactants in Sediments by Liquid Chromatography Polarity-Switching Electrospray Ionization coupled to High Resolution Mass Spectrometry

632

Table of Contents

Tables

Model PFAS analytes and internal standards.....	p 634
Details on sediment samples.....	p 636
Chromatographic gradient conditions.....	p 637
PFAS levels in procedural blanks.....	p 638
Main positive mode Sq suspects identified in the present survey.....	p 639
Other Sq or QI suspects investigated in Full Scan mode.....	p 641
Details on the solvent-based calibration curve.....	p 643
Details on the matrix-based calibration curve.....	p 644
Method performance.....	p 645
Correlations.....	p 646

Figures

Structures of positive mode Sq suspects identified.....	p 647
Method optimization.....	p 648
Matrix effects.....	p 650
Identification of fluorotelomer amines.....	p 651
Multivariate analysis results.....	p 652

Model PFAS analytes and internal standards

Table S1. Details on model analytes and isotope-labeled internal standards (ISs): compound acronym, type (Qn: quantitative; Sq: semi-quantitative; Ql: qualitative; internal standard: IS), name, formula, theoretical and observed exact mass, error (Δ ppm)(absolute value), retention time (RT, min), and corresponding IS.

Acronym	Type	Compound name	Molecular formula	[M-H] ⁻ or [M+H] ⁺ or M ⁺	Theoretical m/z	Observed m/z	Δ ppm*	RT	Corresponding IS
PFBA	Ql	perfluoro-n-butoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₂ CO ₂ H	C ₄ F ₇ O ₂ ⁻	212.97947	212.97919	1.31	2.52	MPFBA
PFPeA	Qn	perfluoro-n-pentanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₃ CO ₂ H	C ₅ F ₉ O ₂ ⁻	262.97669	262.97682	0.49	4.10	MPFBA
PFHxA	Qn	perfluoro-n-hexanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₄ CO ₂ H	C ₆ F ₁₁ O ₂ ⁻	312.97335	312.97378	1.37	4.98	MPFHxA
PFHpA	Qn	perfluoro-n-heptanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₅ CO ₂ H	C ₇ F ₁₃ O ₂ ⁻	362.97013	362.97053	1.10	5.66	MPFOA
PFOA	Qn	perfluoro-n-octanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₆ CO ₂ H	C ₈ F ₁₅ O ₂ ⁻	412.96714	412.96694	0.48	6.25	MPFOA
PFNA	Qn	perfluoro-n-nonanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₇ CO ₂ H	C ₉ F ₁₇ O ₂ ⁻	462.96414	462.96385	0.63	6.78	MPFNA
PFDA	Qn	perfluoro-n-decanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₈ CO ₂ H	C ₁₀ F ₁₉ O ₂ ⁻	512.96066	512.96046	0.39	7.31	MPFDA
PFUnDA	Qn	perfluoro-n-undecanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₉ CO ₂ H	C ₁₁ F ₂₁ O ₂ ⁻	562.95740	562.95716	0.43	7.80	MPFUnA
PFDoDA	Qn	perfluoro-n-dodecanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₁₀ CO ₂ H	C ₁₂ F ₂₃ O ₂ ⁻	612.95461	612.95414	0.77	8.27	MPFDoA
PFTxDA	Qn	perfluoro-n-tridecanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₁₁ CO ₂ H	C ₁₃ F ₂₅ O ₂ ⁻	662.95041	662.95118	1.16	8.71	MPFDoA
PFTeDA	Qn	perfluoro-n-tetradecanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₁₂ CO ₂ H	C ₁₄ F ₂₇ O ₂ ⁻	712.94808	712.94845	0.52	9.11	MPFDoA
PFHxDA	Qn	perfluoro-n-hexadecanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₁₄ CO ₂ H	C ₁₆ F ₃₁ O ₂ ⁻	812.94292	812.94229	0.77	9.72	MPFDoA
PFOxDA	Qn	perfluoro-n-octadecanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₁₆ CO ₂ H	C ₁₈ F ₃₅ O ₂ ⁻	912.93394	912.93597	2.22	10.19	MPFDoA
PFBS	Qn	n-perfluoro-1-butanesulfonic acid	F ₃ C(CF ₂) ₃ SO ₃ H	C ₄ F ₉ SO ₃ ⁻	298.94326	298.94373	1.57	4.96	MPFHxS
PFHxS	Qn	n-perfluoro-1-hexanesulfonic acid	F ₃ C(CF ₂) ₅ SO ₃ H	C ₆ F ₁₃ SO ₃ ⁻	398.93712	398.93685	0.68	6.35	MPFHxS
PFOS	Qn	n-perfluoro-1-octanesulfonic acid	F ₃ C(CF ₂) ₇ SO ₃ H	C ₈ F ₁₇ SO ₃ ⁻	498.93126	498.93036	1.80	7.43	MPFOS
PFDS	Qn	n-perfluoro-1-decanesulfonic acid	F ₃ C(CF ₂) ₉ SO ₃ H	C ₁₀ F ₂₁ SO ₃ ⁻	598.92487	598.92420	1.12	8.38	MPFOS
FOSA	Qn	perfluorooctanesulfonamide	F ₃ C(CF ₂) ₇ SO ₂ NH ₂	C ₈ F ₁₇ SO ₂ NH ⁻	497.94631	497.94609	0.44	8.59	MPFOS
6:2 FTSA	Ql	1H,1H,2H,2H-perfluorooctanesulfonic acid	F ₃ C(CF ₂) ₅ CH ₂ CH ₂ SO ₃ H	C ₈ F ₁₃ SO ₃ H ₄ ⁻	426.96866	426.96854	0.28	5.97	MPFOS

6:2 FTUA	Qn	2H-perfluoro-2-octenoic acid (6:2)	$F_3C(CF_2)_4CF=CHCO_2H$	$C_5F_{11}CF=CHCO_2^-$	356.97849	356.97945	2.69	7.41	MPFOA
8:2 FTUA	Qn	2H-perfluoro-2-decenoic acid (8:2)	$F_3C(CF_2)_6CF=CHCO_2H$	$C_7F_{15}CF=CHCO_2^-$	456.97210	456.97300	1.97	8.55	MPFOA
5:3 FTCA	Qn	3-perfluoropentyl propanoic acid (5:3)	$F_3C(CF_2)_4CH_2CH_2CO_2H$	$C_5F_{11}CH_2CH_2CO_2^-$	341.00356	341.00451	2.79	7.28	MPFOA
7 :3 FTCA	Qn	3-perfluoroheptyl propanoic acid (7:3)	$F_3C(CF_2)_6CH_2CH_2CO_2H$	$C_7F_{15}CH_2CH_2CO_2^-$	440.99717	440.99799	1.86	8.39	MPFOA
PFOANO	Sq	<i>N,N</i> -dimethyl-3-(perfluorooctanamido)propan-1-amine oxide	$C_{13}H_{13}F_{15}N_2O_2$	$[C_{13}H_{14}F_{15}N_2O_2]^+$	515.08103	515.08124	0.41	6.56	MPFOS
PFOSNO	Sq	<i>N,N</i> -dimethyl-3-(perfluorooctylsulfonamido)propan-1-amine oxide	$C_{13}H_{13}F_{17}N_2O_3S$	$[C_{13}H_{14}F_{17}N_2O_3S]^+$	601.04482	601.04376	1.76	7.52	MPFOS
PFOSAm	Sq	N-(3-(Dimethylamino)propyl)-perfluorooctane-1-sulfonamide	$C_{13}H_{13}F_{17}N_2O_2S$	$[C_{13}H_{14}F_{17}N_2O_2S]^+$	585.04990	585.04962	0.48	7.48	MPFOS
PFOSAmS	Sq	<i>N,N,N</i> -trimethyl-3-(perfluorooctylsulfonamido)propan-1-aminium	$C_{14}H_{16}F_{17}N_2O_2S^+$	$[C_{14}H_{16}F_{17}N_2O_2S]^+$	599.06555	599.06504	0.85	7.54	MPFOS
PFOAAmS	Sq	<i>N,N,N</i> -trimethyl-perfluorooctanamido)propan-1-aminium	$C_{14}H_{16}F_{15}N_2O^+$	$[C_{14}H_{16}F_{15}N_2O]^+$	513.10176	513.10183	0.14	6.54	MPFOS
PFOSB	Sq	2-(dimethyl(3-(perfluorooctylsulfonamido)propyl)ammonio)acetate	$C_{15}H_{15}F_{17}N_2O_4S$	$[C_{15}H_{16}F_{17}N_2O_4S]^+$	643.05538	643.05449	1.38	7.33	MPFOS
PFOAB	Sq	2-(dimethyl(3-(perfluorooctanamido)propyl)ammonio)acetate	$C_{15}H_{15}F_{15}N_2O_3$	$[C_{15}H_{16}F_{15}N_2O_3]^+$	557.09159	557.09349	3.41	6.35	MPFOS
MPFBA	IS	perfluoro-n-[1,2,3,4- $^{13}C_4$]-butanoic acid	$^{13}C_4F_7O_2H$	$^{13}C_4F_7O_2^-$	216.99177	216.99267	4.15	2.51	
MPFHxA	IS	perfluoro-n-[1,2- $^{13}C_2$]-hexanoic acid	$^{12}C_3^{13}C_2F_{11}O_2H$	$^{12}C_3^{13}C_2F_9O_2^-$	314.98039	314.98044	0.16	4.98	
MPFOA	IS	perfluoro-n-[1,2,3,4- $^{13}C_4$]-octanoic acid	$^{12}C_4^{13}C_4F_{15}O_2H$	$^{12}C_4^{13}C_4F_{15}O_2^-$	416.97975	416.98057	1.65	6.25	
MPFNA	IS	perfluoro-n-[1,2,3,4,5- $^{13}C_5$]-nonanoic acid	$^{12}C_4^{13}C_5F_{17}O_2H$	$^{12}C_4^{13}C_5F_{17}O_2^-$	467.97969	467.98022	1.88	6.78	
MPFDA	IS	perfluoro-n-[1,2- $^{13}C_2$]-decanoic acid	$^{12}C_8^{13}C_2F_{19}O_2H$	$^{12}C_8^{13}C_2F_{19}O_2^-$	514.96640	514.96692	1.01	7.31	
MPFUnDA	IS	perfluoro-n-[1,2- $^{13}C_2$]-undecanoic acid	$^{12}C_9^{13}C_2F_{21}O_2H$	$^{12}C_9^{13}C_2F_{21}O_2^-$	564.96326	564.96393	1.19	7.80	
MPFDoDA	IS	perfluoro-n-[1,2- $^{13}C_2$]-dodecanoic acid	$^{12}C_{10}^{13}C_2F_{23}O_2H$	$^{12}C_{10}^{13}C_2F_{23}O_2^-$	614.96041	614.96051	0.16	8.27	
MPFHxS	IS	n-perfluoro-1-hexane [$^{18}O_2$]sulfonic acid	$C_6F_{13}S^{18}O_2^{16}O_1H$	$C_6F_{13}S^{18}O_2^{16}O_1^-$	402.94505	402.94524	0.47	6.35	
MPFOS	IS	n-perfluoro-1-[1,2,3,4- $^{13}C_4$]-octanesulfonic acid	$^{12}C_4^{13}C_4F_{17}SO_3H$	$^{12}C_4^{13}C_4F_{17}SO_2^-$	502.94334	502.94357	0.46	7.43	

*Δppm: absolute value.

Details on sediment samples

Table S2. Details on sediment samples: code, location, water district, associated pressure, sediment organic carbon content (TOC) and sediment grain size (fine fraction: mass percent fraction of the < 63 μm fraction over the < 2 mm fraction).

Sample code	Location	Water District	Associated Pressure	TOC (%)	Fine fraction (%)
S-1	Escault (river)	Artois-Picardie	Urban	6.06	46.4
S-2	Meurthe (river)	Rhin-Meuse	Urban	6.09	26.4
S-3	Risle (river)	Seine-Normandie	Industrial	5.88	21.2
S-4	Yerres (river)	Seine-Normandie	Urban	7.39	14.9
S-5	Bedat (river)	Loire-Bretagne	Urban	0.91	2.9
S-6	Clain (river)	Loire-Bretagne	Urban	1.49	13.5
S-7	Layon (river)	Loire-Bretagne	Farmland	1.91	20.9
S-8	Garonne (river)	Adour-Garonne	Urban	4.34	16.4
S-9	Ouche (river)	Rhône-Méditerranée	Urban	NA	NA
S-10	Rhône (river)	Rhône-Méditerranée	Urban + Industrial*	0.43	5.1
S-11	Avène (river)	Rhône-Méditerranée	Industrial	1.16	10.0
S-12	Bordeaux (lake)	Adour-Garonne	Urban	8.23	33.3

*fluoropolymer manufacturing plant ~15 km upstream

Chromatographic gradient conditions

Table S3. Details on chromatographic gradient conditions (column temperature: 40°C). A = HPLC water containing 0.1 % HCOOH; B = ACN containing 0.1 % HCOOH.

Time (min)	Flow rate (mL min ⁻¹)	% A	% B
0	0.55	90	10
7	0.55	27.5	72.5
8.5	0.55	0	100
12.5	0.55	0	100
12.6	0.55	90	10
15.5	0.55	90	10

PFAS levels in procedural blanks

Table S4. PFAS levels in procedural blanks (n=7) for Qn and Sq PFAS analytes. Note that no FTABs nor FTAs were detected in procedural blanks.

	Levels in procedural blanks (ng)
PFPeA	nd
PFHxA	0.022 ± 0.016
PFHpA	0.011 ± 0.0031
PFOA	0.50 ± 0.099
PFNA	nd
PFDA	0.0041 ± 0.0014
PFUnDA	0.0064 ± 0.0018
PFDoDA	0.0027 ± 0.0024
PFTTrDA	0.00073 ± 0.0010
PFTeDA	0.0028 ± 0.0020
PFHxDA	0.018 ± 0.012
PFOcDA	0.015 ± 0.023
PFBS	nd
PFHxS	0.0081 ± 0.00086
PFOS	0.00029 ± 0.00037
PFDS	Nd
FOSA	0.000086 ± 0.00023
6:2 FTUA	Nd
8:2 FTUA	Nd
5:3 FTCA	Nd
7:3 FTCA	Nd
PFOAB	Nd
PFOSB	Nd
PFOANO	Nd
PFOSNO	Nd
PFOAAmS	Nd
PFOSAmS	Nd
PFOSAm	Nd

Main positive mode Sq suspects identified in the present survey

Table S5. Details on the main Sq positive mode analytes found in the present survey: compound acronym, generic name, theoretical and observed exact mass, error (Δ ppm), retention time (RT, min), theoretical exact mass of t-MS² fragments used for confirmation purposes, analogue compound used for quantitation purposes. In all cases, ¹³C₄-PFOS was used as IS.

Acronym	Generic name	Theoretical m/z	Observed m/z	Δ ppm	RT (min)	Fragment 1	Fragment 2	Fragment 3	Analogue used for quantitation
6:2 FTA	6:2 fluorotelomer sulfonamide amine	513.08814	513.08813	-0.019	6.60	468.02974	439.99844	-	PFOSAm
8:2 FTA	8:2 fluorotelomer sulfonamide amine	613.08175	613.08209	+0.55	7.68	568.02336	539.99206	-	PFOSAm
6:2 FTAB	6:2 fluorotelomer sulfonamide betaine	571.09362	571.09277	-1.5	6.35	468.02974	439.99844	104.07061	PFOSB
8:2 FTAB	8:2 fluorotelomer sulfonamide betaine	671.08723	671.08722	-0.014	7.37	568.02336	539.99206	104.07061	PFOSB
10:2 FTAB	10:2 fluorotelomer sulfonamide betaine	771.08084	771.08130	+0.60	8.30	668.01698	639.98568	104.07061	PFOSB
12:2 FTAB	12:2 fluorotelomer sulfonamide betaine	871.07446	871.07343	-1.2	9.12	768.01060	739.97930	104.07061	PFOSB

Other Sq or QI suspects investigated in Full Scan mode

Table S6. Details on other Sq or QI suspects investigated in Full Scan mode in the present survey.

Acronym	Generic Name	Formula [M+H] ⁺	Theoretical m/z	Reference	Detection frequency	Observed m/z*	Appm*	RT* (min)	Analyte proposed for quantitation*	IS*	Estimated Concentration Range (ng g ⁻¹ dw)*, **
10:2 FTA	10:2 fluorotelomer sulfonamide amine	C ₁₇ F ₂₁ H ₁₈ N ₂ SO ₂ ⁺	713.07536	D'Agostino and Mabury, 2014	4/12	713.07544	0.11	8.43	PFOSAm	MPFOS	ND–0.25
12:2 FTA	12:2 fluorotelomer sulfonamide amine	C ₁₉ F ₂₅ H ₁₈ N ₂ SO ₂ ⁺	813.06897	Present study	1/12	813.06952	0.68	9.12	PFOSAm	MPFOS	ND–0.05
5:3 FTB	5:3 fluorotelomer betaine	C ₁₂ F ₁₁ H ₁₅ NO ₂ ⁺	414.09271	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
7:3 FTB	7:3 fluorotelomer betaine	C ₁₄ F ₁₅ H ₁₅ NO ₂ ⁺	514.08632	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
9:3 FTB	9:3 fluorotelomer betaine	C ₁₆ F ₁₉ H ₁₅ NO ₂ ⁺	614.07993	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
11:3 FTB	11:3 fluorotelomer betaine	C ₁₈ F ₂₃ H ₁₅ NO ₂ ⁺	714.07354	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
13:3 FTB	13:3 fluorotelomer betaine	C ₂₀ F ₂₇ H ₁₅ NO ₂ ⁺	814.06716	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
5:1:2 FTB	5:1:2 fluorotelomer betaine	C ₁₂ F ₁₂ H ₁₄ NO ₂ ⁺	432.08329	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
7:1:2 FTB	7:1:2 fluorotelomer betaine	C ₁₄ F ₁₆ H ₁₄ NO ₂ ⁺	532.07690	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
9:1:2 FTB	9:1:2 fluorotelomer betaine	C ₁₆ F ₂₀ H ₁₄ NO ₂ ⁺	632.07051	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
11:1:2 FTB	11:1:2 fluorotelomer betaine	C ₁₈ F ₂₄ H ₁₄ NO ₂ ⁺	732.06412	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
13:1:2 FTB	13:1:2 fluorotelomer betaine	C ₂₀ F ₂₈ H ₁₄ NO ₂ ⁺	832.05773	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
15:1:2 FTB	15:1:2 fluorotelomer betaine	C ₂₄ F ₃₂ H ₁₄ NO ₂ ⁺	956.05135	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
PFPrSAC	Perfluoropropane sulfonamido amino carboxylate	C ₁₁ F ₇ H ₁₈ N ₂ SO ₄ ⁺	407.08755	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
PFBSAC	Perfluorobutane sulfonamido amino carboxylate	C ₁₂ F ₉ H ₁₈ N ₂ SO ₄ ⁺	457.08435	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
PFPeSAC	Perfluoropentane sulfonamido amino carboxylate	C ₁₃ F ₁₁ H ₁₈ N ₂ SO ₄ ⁺	507.08116	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	***
PFHxSAC	Perfluorohexane sulfonamido amino carboxylate	C ₁₄ F ₁₃ H ₁₈ N ₂ SO ₄ ⁺	557.07796	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
PFHpSAC	Perfluoroheptane sulfonamido amino carboxylate	C ₁₅ F ₁₅ H ₁₈ N ₂ SO ₄ ⁺	607.07477	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	***
PFOSAC	Perfluorooctane sulfonamido amino carboxylate	C ₁₆ F ₁₇ H ₁₈ N ₂ SO ₄ ⁺	657.07158	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-

*when applicable; **blank corrected (when applicable); ***Found in 2/12 samples but at levels lower than the corresponding procedural blanks.

"-": analyte not detected or detected but at levels < to those in procedural blanks or detected but with δ ppm > 3.

Other Sq or QI suspects investigated in Full Scan mode

Table S6. (Continued)

Acronym	Generic Name	Formula [M-H] ⁻	Theoretical m/z	Reference	Detection frequency	Observed m/z*	Δppm*	RT* (min)	Analyte proposed for quantitation*	IS*	Estimated Concentration Range (ng g ⁻¹ dw)*, **
PFECHS	Perfluoroethyl cyclohexane sulfonate	C ₈ F ₁₅ SO ₃ ⁻	460.93286	Da Silva et al., 2011	-	-	-	-	-	-	-
PFEtS	Perfluoroethane sulfonate	C ₂ F ₅ SO ₃ ⁻	198.94883	Present study	-	-	-	-	-	-	-
PFPrS	Perfluoropropane sulfonate	C ₃ F ₇ SO ₃ ⁻	248.94563	Present study	-	-	-	-	-	-	-
PFPeS	Perfluoropentane sulfonate	C ₅ F ₁₁ SO ₃ ⁻	348.93925	Rotander et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
PFHpS	Perfluoroheptane sulfonate	C ₇ F ₁₅ SO ₃ ⁻	448.93286	Rotander et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
PFNS	Perfluorononane sulfonate	C ₉ F ₁₉ SO ₃ ⁻	548.92647	Rotander et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
Cl-PFHxS	1-chloro perfluorohexane sulfonate	ClC ₆ F ₁₂ SO ₃ ⁻	414.90650	Rotander et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
Ether-PFHxS	Perfluoromethoxy perfluoropentane sulfonate	C ₆ F ₁₃ SO ₄ ⁻	414.93097	Rotander et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
Cl-PFOS	1-chloro perfluorooctane sulfonate	ClC ₈ F ₁₆ SO ₃ ⁻	514.90011	Rotander et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
Ketone-PFOS	6-oxoperfluorooctane sulfonate	C ₈ F ₁₅ SO ₄ ⁻	476.92777	Rotander et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
4:2 FTSAS	4:2 fluorotelomer thioether amido sulfonate	C ₁₃ F ₉ H ₁₇ NS ₂ O ₄ ⁻	486.04553	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
6:2 FTSAS	6:2 fluorotelomer thioether amido sulfonate	C ₁₅ F ₁₃ H ₁₇ NS ₂ O ₄ ⁻	586.03914	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
8:2 FTSAS	8:2 fluorotelomer thioether amido sulfonate	C ₁₇ F ₁₇ H ₁₇ NS ₂ O ₄ ⁻	686.03275	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
10:2 FTSAS	10:2 fluorotelomer thioether amido sulfonate	C ₁₉ F ₂₁ H ₁₇ NS ₂ O ₄ ⁻	786.02636	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
12:2 FTSAS	12:2 fluorotelomer thioether amido sulfonate	C ₂₁ F ₂₅ H ₁₇ NS ₂ O ₄ ⁻	886.01997	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-
14:2 FTSAS	14:2 fluorotelomer thioether amido sulfonate	C ₂₃ F ₂₉ H ₁₇ NS ₂ O ₄ ⁻	986.01359	D'Agostino and Mabury, 2014	-	-	-	-	-	-	-

*when applicable; **blank corrected (when applicable). "-": analyte not detected or detected but at levels < to those in procedural blanks or detected but with δ ppm > 3.

Other Sq or QI suspects investigated in Full Scan mode

Table S6. (Continued)

Acronym	Generic Name	Formula [M-H] ⁻	Theoretical m/z	Reference	Detection frequency	Observed m/z*	Δppm*	RT* (min)	Analyte proposed for quantitation*	IS*	Estimated Concentration Range (ng g ⁻¹ dw)*, **
H-PFHxA	H-perfluorohexanoate	C ₆ F ₁₀ HO ₂ ⁻	294.98168	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
H-PFHpA	H-perfluoroheptanoate	C ₇ F ₁₂ HO ₂ ⁻	344.97849	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
H-PFOA	H-perfluorooctanoate	C ₈ F ₁₄ HO ₂ ⁻	394.97529	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
H-PFNA	H-perfluorononanoate	C ₉ F ₁₆ HO ₂ ⁻	444.97210	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
H-PFDA	H-perfluorodecanoate	C ₁₀ F ₁₈ HO ₂ ⁻	494.96890	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
H-PFUnA	H-perfluoroundecanoate	C ₁₁ F ₂₀ HO ₂ ⁻	544.96571	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
H-PFDoA	H-perfluorododecanoate	C ₁₂ F ₂₂ HO ₂ ⁻	594.96252	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
H-PFTrDA	H-perfluorotridecanoate	C ₁₃ F ₂₄ HO ₂ ⁻	644.95933	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
H-PFTeDA	H-perfluorotetradecanoate	C ₁₄ F ₂₆ HO ₂ ⁻	694.95613	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
H-PFPeDA	H-perfluoropentadecanoate	C ₁₅ F ₂₈ HO ₂ ⁻	744.95293	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
H-PFHxDA	H-perfluorohexadecanoate	C ₁₆ F ₃₀ HO ₂ ⁻	794.94974	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
H-PFHpDA	H-perfluoroheptadecanoate	C ₁₇ F ₃₂ HO ₂ ⁻	844.94655	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
Cl-PFPeA	Cl-perfluoropentanoate	ClC5F8O2 ⁻	278.94590	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
Cl-PFHxA	Cl-perfluorohexanoate	ClC6F10O2 ⁻	328.94271	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
Cl-PFHpA	Cl-perfluoroheptanoate	ClC7F12O2 ⁻	378.93951	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
Cl-PFOA	Cl-perfluorooctanoate	ClC8F14O2 ⁻	428.93632	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
Cl-PFNA	Cl-perfluorononanoate	ClC9F16O2 ⁻	478.93313	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
Cl-PFDA	Cl-perfluorodecanoate	ClC10F18O2 ⁻	528.92993	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
Cl-PFUnA	Cl-perfluoroundecanoate	ClC11F20O2 ⁻	578.92674	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-
Cl-PFDoA	Cl-perfluorododecanoate	ClC12F22O2 ⁻	628.92354	Liu et al., 2015	-	-	-	-	-	-	-

*when applicable; **blank corrected (when applicable). "-": analyte not detected or detected but at levels < to those in procedural blanks or detected but with δ ppm > 3.

Details on the solvent-based calibration curve

Table S7. Details on the solvent-based calibration curve (1/x weighted linear regressions), including coefficients of determination (R^2), linearity range, and deviation between observed (y) and calculated-back (\hat{y}) relative responses.

	R^2	Linearity range (ng mL ⁻¹)	Deviation (%) at lowest calibration level	Deviation (%) at highest calibration level	Deviation range (%) over whole linear range
PFPeA	0.9999	0.05–40	+1.6	-0.51	-7.5 to +3.7
PFHxA	0.9995	0.05–40	+5.8	+1.1	-13 to +14
PFHpA	0.9997	0.1–40	+2.4	-1.2	-8.9 to +4.2
PFOA	0.9999	0.5–40	-6.6	-0.3	-6.6 to +2.4
PFNA	0.9997	0.01–40	+7.6	+0.24	-13 to +11
PFDA	0.9997	0.05–40	+13	+0.74	-14 to +13
PFUnDA	0.9997	0.01–40	+9.1	-1.07	-23 to +9.1
PFDODA	0.9995	0.01–40	-24	-1.66	-24 to +16
PFTTrDA	0.9980	0.01–40	-7.6	+0.67	-28 to +18
PFTeDA	0.9997	0.01–40	+8.0	-0.99	-17 to +8.0
PFHxDA	0.9992	0.01–40	-4.7	-1.6	-11 to +15
PFOcDA	0.9964	0.01–40	-11	-4.5	-11 to +13
PFBS	0.9999	0.01–40	+9.1	+0.36	-7.1 to +9.1
PFHxS	0.9998	0.01–40	+0.69	+0.35	-4.3 to +6.5
PFOS	0.9999	0.01–40	+5.1	-0.51	-7.1 to +5.1
PFDS	0.9985	0.01–40	+19	+3.0	-7.0 to +19
FOSA	0.9998	0.01–40	-13	+0.70	-13 to +11
6:2 FTUA	0.9993	0.1–40	-4.6	-0.45	-8.8 to +15
8:2 FTUA	0.9995	0.05–40	+16	+0.80	-9.7 to +16
5:3 FTCA	0.9984	0.5–40	+31	+2.2	-12 to +31
7:3 FTCA	0.9989	0.1–40	+47	+1.6	-16 to +47
PFOAB	0.9966	0.1–40	+48	+4.2	-16 to +48
PFOSB	0.9961	0.5–40	+22	+4.3	-10 to +22
PFOANO	0.9977	0.1–40	+31	+3.5	-13 to +31
PFOSNO	0.9958	0.5–40	+37	+4.9	-12 to +37
PFOAAmS	0.9947	1–40	+40	+4.6	-14 to +40
PFOSAmS	0.9962	0.5–40	+38	+4.1	-11 to +38
PFOSAm	0.9981	0.5–40	+19	+3.0	-8.8 to +19

Details on matrix-based calibration curves

Table S8. Details on the matrix-based (standard additions to sediment extracts, spiked post sample preparation) calibration curve (1/x weighted linear regressions), including coefficients of determination (R^2), linearity range, and deviations (residuals) between observed (y) and calculated-back (\hat{y}) relative responses.

	R^2	Linearity range (ng mL ⁻¹)	Deviation (%) at lowest calibration level	Deviation (%) at highest calibration level	Deviation range (%) over whole linear range
PFPeA	0.9977	0.05–40	-2.1	-2.0	-14 to +13
PFHxA	0.9986	0.05–40	+11	+1.9	-13 to +11
PFHpA	0.9986	0.1–40	-7.5	-0.97	-7.5 to +11
PFOA	0.9986	1–40	-6.4	-0.57	-6.5 to +6.3
PFNA	0.9992	0.01–40	+4	+0.91	-14 to +6.3
PFDA	0.9986	0.05–40	+27	-0.087	-11 to +27
PFUnDA	0.9999	0.01–40	-3.7	+0.31	-3.7 to +7.4
PFDODA	0.9986	0.01–40	+0.57	-1.3	-6.2 to +10
PFTTrDA	0.9986	0.05–40	-10	-0.44	-10 to +12
PFTeDA	0.9970	0.05–40	-19	-2.7	-19 to +15
PFHxDA	0.9950	0.1–40	-28	-4.6	-28 to +17
PFOcDA	0.9973	0.5–40	-14	-1.7	-14 to +14
PFBS	0.9992	0.01–40	-23	-1.5	-23 to +11
PFHxS	0.9987	0.01–40	+3.1	+1.0	-9.2 to +7.4
PFOS	0.9988	0.01–40	+0.052	+0.59	-5.8 to +7.1
PFDS	0.9981	0.01–40	+17	+3.2	-18 to +17
FOSA	0.9963	0.01–40	-7.4	-4.6	-17 to +15
6:2 FTUA	0.9990	0.5–40	-2.2	+0.58	-11 to +7.8
8:2 FTUA	0.9987	0.1–40	-23	+1.3	-23 to +6.7
5:3 FTCA	0.9993	0.5–40	-4.2	+1.2	-4.2 to +7.8
7:3 FTCA	0.9988	0.1–40	+18	+0.52	-20 to +18
PFOAB	0.9981	0.5–40	-9.1	+2.9	-6.0 to +9.1
PFOSB	0.9975	0.5–40	+18	+3.4	-10 to +18
PFOANO	0.9990	0.5–40	-3.2	-1.0	-12 to +7.4
PFOSNO	0.9984	0.5–40	-24	-0.18	-24 to +14
PFOAAmS	0.9960	1–40	+9.0	+4.1	-9.0 to +9.0
PFOSAmS	0.9987	0.5–40	-7.4	+1.8	-7.4 to +9.1
PFOSAm	0.9988	0.5–40	-2.5	+1.7	-6.1 to +8.2

Method performance

Table S9. Method performance (accuracy, repeatability and reproducibility) evaluated on Quebec sediment samples fortified at two spike levels (1 and 10 ng g⁻¹ dw). Intraday and interday precision correspond to relative standard deviations (RSD, %).

	Accuracy (%)	Accuracy (%)	Intraday (RSD, %)	Intraday (RSD, %)	Interday (RSD, %)	Interday (RSD, %)
Replicates	n=5	n=5	n=5	n=5	n=15	n=15
Spike level (ng g ⁻¹ dw)	1	10	1	10	1	10
PFPeA	97 ± 5	103 ± 5	4	3	4	3
PFHxA	97 ± 3	106 ± 3	3	2	4	2
PFHpA	111 ± 3	124 ± 3	3	4	5	6
PFOA	93 ± 1	107 ± 1	3	3	5	2
PFNA	98 ± 2	105 ± 2	2	1	2	2
PFDA	100 ± 4	105 ± 4	2	2	2	2
PFUnDA	101 ± 3	106 ± 3	3	3	3	2
PFDoDA	101 ± 3	107 ± 3	2	1	2	1
PFTTrDA	107 ± 3	114 ± 3	2	1	5	4
PFTeDA	97 ± 4	101 ± 4	1	4	3	3
PFHxDA	90 ± 1	85 ± 1	5	2	9	4
PFOcDA	82 ± 5	87 ± 5	3	5	6	6
PFBS	89 ± 3	98 ± 3	1	1	3	2
PFHxS	98 ± 3	106 ± 3	2	1	1	1
PFOS	104 ± 3	109 ± 3	0	0	1	1
PFDS	93 ± 3	105 ± 3	3	1	2	2
FOSA	100 ± 6	113 ± 6	1	4	5	4
6:2 FTUA	91 ± 2	87 ± 2	5	4	7	4
8:2 FTUA	95 ± 2	96 ± 2	5	4	6	4
5:3 FTCA	68 ± 3	86 ± 3	7	4	8	6
7:3 FTCA	83 ± 3	103 ± 3	4	3	8	4
PFOAB	43 ± 1	47 ± 1	5	1	6	3
PFOSB	48 ± 3	55 ± 3	9	4	11	5
PFOANO	50 ± 4	26 ± 4	5	1	12	21
PFOSNO	48 ± 4	25 ± 4	3	3	10	23
PFOAAmS	<LOQ	40 ± 5	2	2	4	2
PFOSAmS	54 ± 3	66 ± 3	1	2	4	2
PFOSAm	85 ± 4	110 ± 4	2	2	6	4

Correlations

Table S10. Spearman Rank Order correlation coefficients between levels PFASs in sediment samples (n=11) and sediment characteristics. Significant coefficients ($p < 0.05$) are indicated in bold. TOC: total organic carbon content; Fine fraction: mass percent fraction of the $< 63 \mu\text{m}$ fraction over the $< 2 \text{ mm}$ fraction.

	ΣFTABs	ΣFTAs	ΣFTCAs	ΣPFCAs	$\Sigma\text{PFSA}s$	TOC	Fine fraction
ΣFTABs	-						
ΣFTAs	0.65	-					
ΣFTCAs	0.45	0.08	-				
ΣPFCAs	0.46	0.16	0.38	-			
$\Sigma\text{PFSA}s$	0.35	0.19	0.12	0.20	-		
TOC	0.20	0.14	0.20	0.06	0.82	-	
Fine fraction	0.17	0.25	-0.22	0.05	0.65	0.81	-

Structures of positive mode QI suspects identified

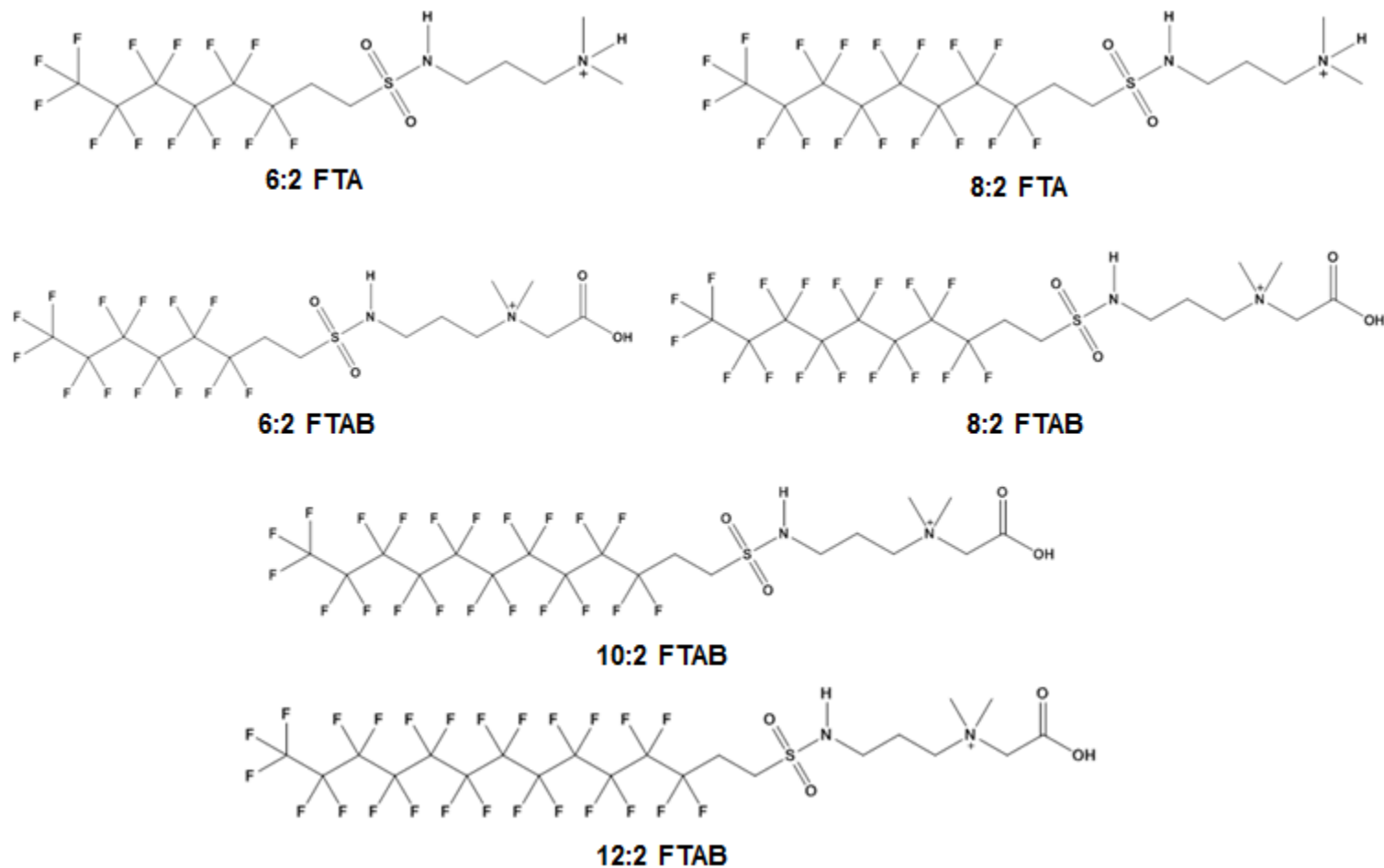


Fig.S1. Structures of positive mode Sq compounds identified in the present survey.

Method optimization

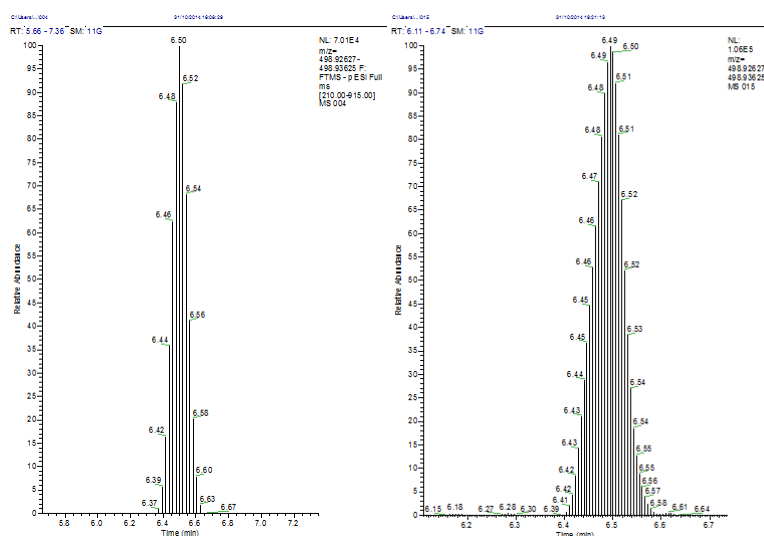


Fig.S2. PFOS chromatograms obtained in polarity switching mode (left) and negative ionization mode (right) (in both cases, 0.25 pg on column).

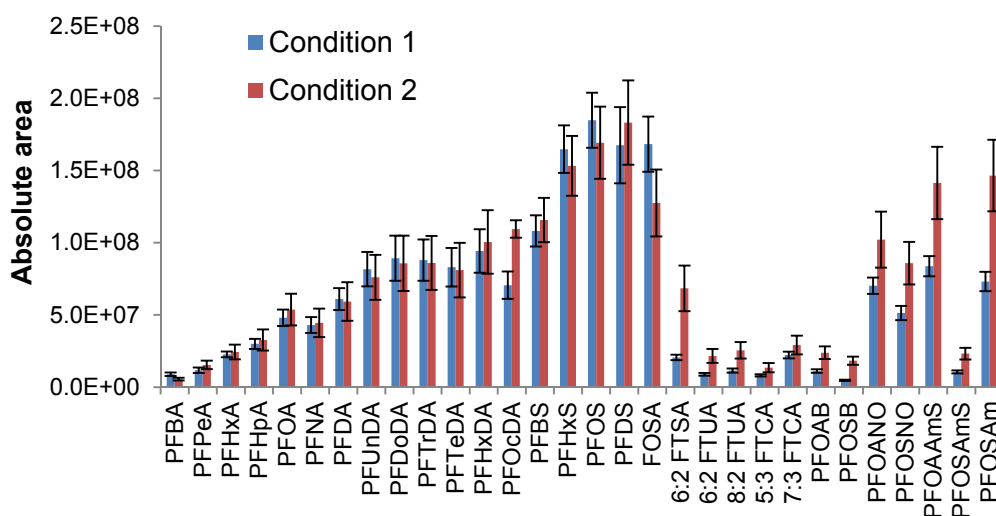


Fig.S3. Influence of HPLC mobile phase pH conditions on analyte absolute area. Condition 1: aqueous phase = HPLC-water containing 2 mM $\text{CH}_3\text{COONH}_4$; organic phase = ACN / HPLC-Water 95:5 (v/v) containing 2 mM $\text{CH}_3\text{COONH}_4$. Condition 2: aqueous phase = HPLC-water containing 0.1% HCOOH (v/v); organic phase = ACN containing 0.1% HCOOH (v/v). Error bars correspond to standard deviations ($n=3$).

Method optimization

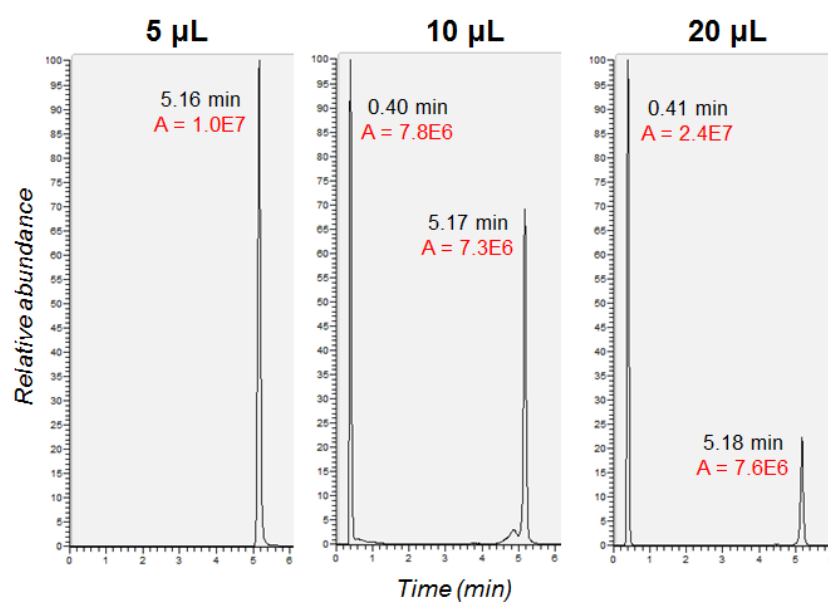


Fig.S4. Influence of injection volume on analyte retention, illustrated for PFPeA (polarity switching mode, acidic mobile phase) (A: absolute area).

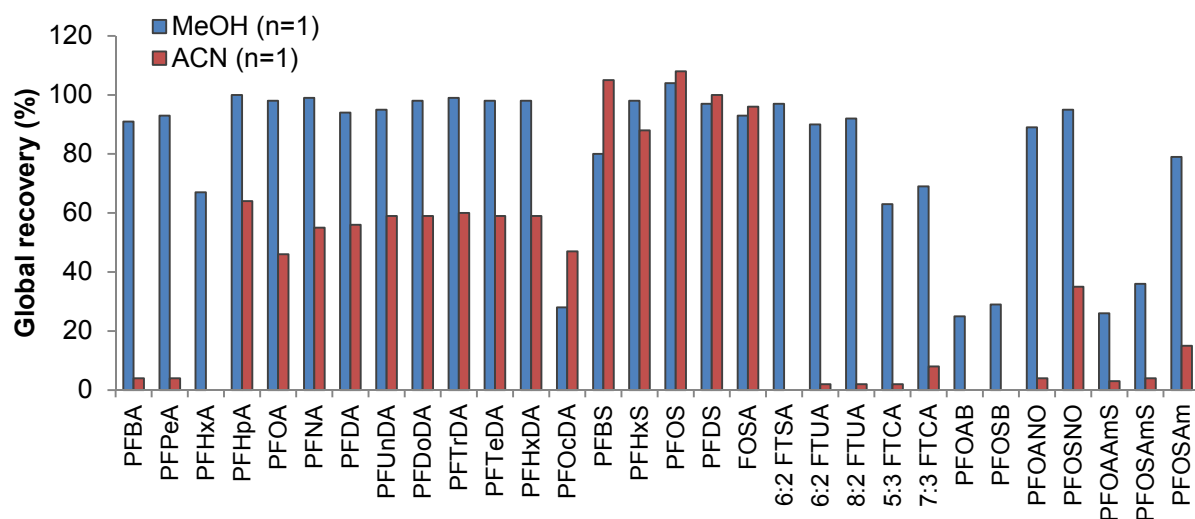


Fig.S5. Preliminary screening of extraction solvents (MeOH Vs. ACN) (n=1): influence on recovery rates (Quebec sediment samples spiked at $10 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ with model native analytes).

Matrix effects

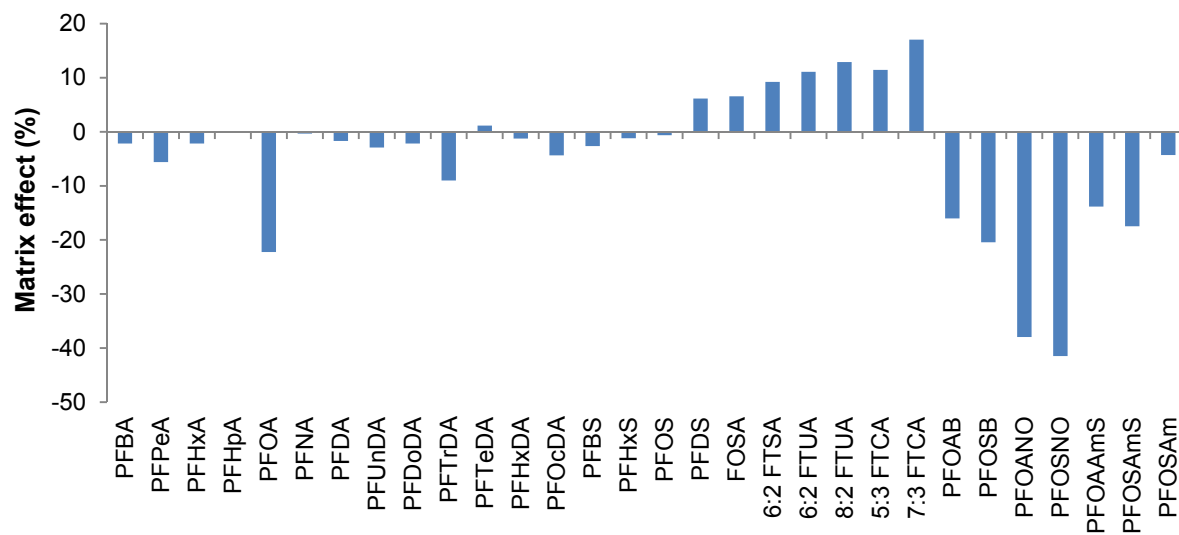


Fig.S6. Matrix effects (%), derived over the whole calibration range from the comparison of solvent-based and matrix-based (standard additions to sediment extracts) calibration curve slopes.

Identification of fluorotelomer amines

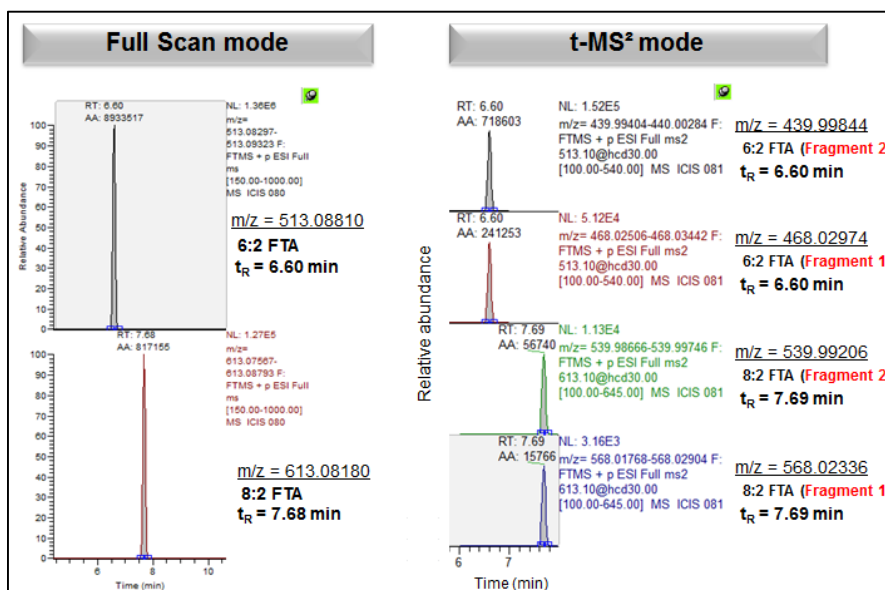


Fig.S7. Illustration of the chromatograms obtained in Full Scan mode and targeted t-MS² mode for structural confirmation of 6:2 FTA and 8:2 FTA in sediment sample S-9 from the Rhône Water District (AA: absolute area).

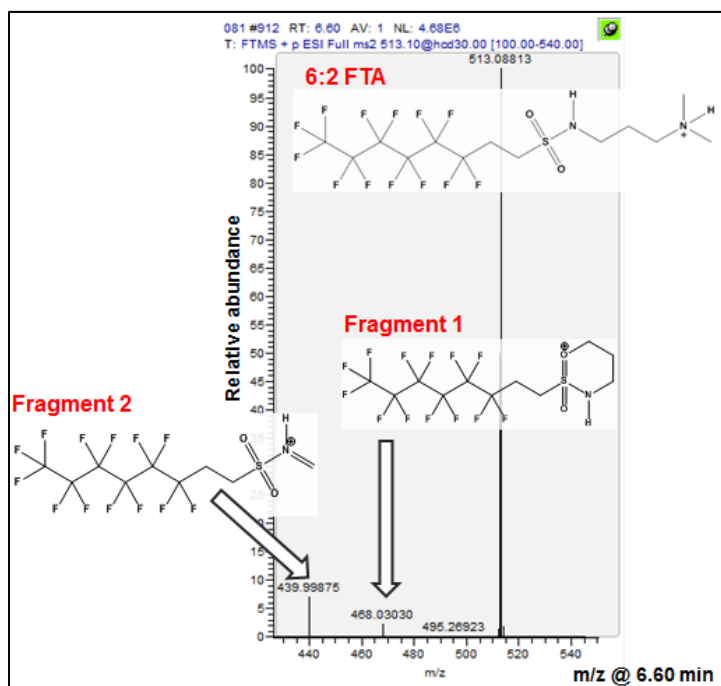


Fig.S8. Orbitrap t-MS² spectrum in sediment sample S-9 from the Rhône Water District, examined at 6.60 min for positive identification of 6:2 FTA.

Multivariate analysis results

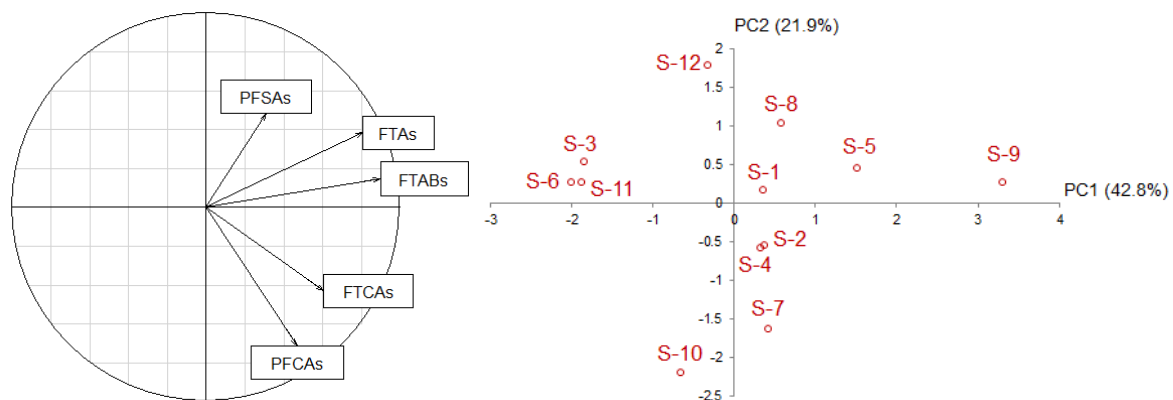


Fig.S9. Principal Component Analysis (PCA) on PFAS sediment levels, showing the variables factor map (left) and individuals factor map (right). PFCAs: Σ (perfluoroalkyl carboxylates); PFASAs: Σ (perfluoroalkyl sulfonates); FTCAs: Σ (fluorotelomer carboxylates); FTABs: Σ (fluorotelomer sulfonamide betaines); FTAs: Σ (fluorotelomer sulfonamide amines).

ANNEXES DU CHAPITRE VI.2

Emergence de surfactants polyfluoroalkylés anioniques, zwitterioniques et cationiques chez le meunier noir *Catostomus commersonii* dans la rivière Chaudière suite au déploiement de mousses anti-incendie de type AFFF lors de l'accident ferroviaire de Lac-Mégantic (Québec, Canada)

Electronic Supporting Information

Legacy and newly-identified fluoroalkylated surfactants in the freshwater fish *Catostomus commersonii* following firefighting foam deployment at the Lac-Mégantic railway accident

Gabriel Munoz^{a,b}, Mélanie Desrosiers^c, Sung Vo Duy^b, Pierre Labadie^d, Hélène Budzinski^d, Jinxia Liu^e, Sébastien Sauvé^{b,*}

^a: Université de Bordeaux, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France. ^b: Department of Chemistry, Université de Montréal, C.P. 6128, Succursale Centre-Ville, Montréal, QC, Canada, H3C 3J7. ^c: Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs, 2700 Einstein Street, Quebec City, QC, Canada, G1P 3W8. ^d: CNRS, EPOC, UMR 5805, LPTC Research Group, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence, France. ^e: McGill University, Department of Civil Engineering, 817 Sherbrooke Street West, Montreal, QC, Canada, H3A 0C3.

*Contact: sebastien.sauve@umontreal.ca.

7 Figures

12 Tables

Table of Contents

Details on chemicals and solvents.....	p 656
Synthesis of zwitterionic and cationic PFASs.....	p 656
Details on sample preparation.....	p 657
Preparation of Quality Controls.....	p 658
Chromatography and mass spectrometry settings.....	p 659
Quantification strategy for PFAS analytes without authentic standards.....	p 660

Figures

Location of the sediment sampling sites.....	p 662
Structures of model PFAS analytes (Qn, Sq).....	p 663
Structures of suspect PFAS analytes (Qn, Sq or QI).....	p 664
Identification and structure confirmation illustrated for FTBs and FTABs.....	p 668
Evolution of Σ PFAS in sediments along the Chaudière River.....	p 670

Tables

Details on firefighting foam agents used at Lac-Mégantic derailment site.....	p 671
Model PFAS analytes and internal standards.....	p 672
List of PFAS suspects investigated in the present survey.....	p 674
Blanks, LOD and LOQ of the sediment PFAS analysis method	p 677
Blanks, LOD and LOQ of the biota PFAS analysis method.....	p 678
Summary of recovery rates.....	p 679
Analysis of NIST SRM 1947 reference material	p 680
Assessment of matrix effects.....	p 681
Details on calibration curves.....	p 682
Details on PFAS concentrations in sediments at each sampling site.....	p 683
Retention time and deviation from nominal mass of PFAS suspects.....	p 684
Biota-sediment accumulation factors (BSAF).....	p 685

Details on chemicals and solvents

19 native anionic and neutral PFASs were purchased from Wellington Labs (Ontario, Canada) and had chemical purities > 98%; PFAC-MXB contained a mixture of 17 PFASs (PFBA, PFPeA, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDODA, PFTrDA, PFTeDA, PFHxDA, PFOcDA, PFBS, PFHxS, PFOS, PFDS) at $2\ \mu\text{g mL}^{-1}$ in MeOH (for perfluoroalkyl sulfonates, $2\ \mu\text{g mL}^{-1}$ as the salt). Perfluorooctane sulfonamide (FOSA) and sodium 1H,1H,2H,2H-perfluorooctane sulfonate (6:2 FTSA) were also purchased from Wellington Labs (Ontario, Canada) and were at 50 and $47.4\ \mu\text{g mL}^{-1}$ in MeOH, respectively. Standards of fluorotelomer unsaturated acids (6:2 FTUA, 8:2 FTUA) as well as fluorotelomer carboxylic acids (5:3 FTCA, 7:3 FTCA) were donated by DuPont USA (Wilmington, DE, USA). MPFAC-MXB contained 9 isotope-labelled internal standards (IS) ($^{13}\text{C}_4$ -PFBA, $^{13}\text{C}_2$ -PFHxA, $^{13}\text{C}_4$ -PFOA, $^{13}\text{C}_5$ -PFNA, $^{13}\text{C}_2$ -PFDA, $^{13}\text{C}_2$ -PFUnDA, $^{13}\text{C}_2$ -PFDODA, $^{18}\text{O}_2$ -PFHxS and $^{13}\text{C}_4$ -PFOS) provided at $2\ \mu\text{g mL}^{-1}$ in MeOH (for PFASs, $2\ \mu\text{g mL}^{-1}$ as the salt). These IS were purchased from Wellington Labs (Ontario, Canada) and had chemical purities > 98% and isotopic purities > 99% per ^{13}C or > 94% per ^{18}O .

HPLC-water, HPLC-water containing 0.1% formic acid (HCOOH), methanol (MeOH), and acetonitrile (ACN) were obtained from Fisher Scientific (Whitby, ON, Canada), as was ammonium hydroxide (NH_4OH , purity 28–30% in water). Sodium hydroxide (NaOH, purity > 97 %) and HCOOH (purity > 95%) were from Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA). Nitrogen (N_2) (purity 99.998 %) was from MEGS Inc. (St-Laurent, QC, Canada). Supelclean ENVI-Carb cartridges (250 mg/6 mL) were obtained from Supelco (Bellefonte, PA, USA), and Strata X-AW cartridges (200 mg/6 mL) were supplied by Phenomenex (Torrance, CA, USA).

Synthesis of model zwitterionic and cationic compounds

Model cationic or zwitterionic perfluoroalkyl compounds were synthesized at the Surfactant Institute at Peking University (China) for method optimization and validation purposes, and were all provided at $2\ \mu\text{g mL}^{-1}$ in MeOH. Chemical purities (based on NMR data) were > 98 % for perfluorooctaneamido ammonium salt (PFOAAmS, CAS# 335-90-0) and perfluorooctanesulfonamido ammonium salt (PFOSAmS, CAS# 1652-63-7), > 97 % for perfluorooctanesulfonamido amine oxide (PFOSNO, CAS# 30295-51-3), > 96 % for perfluorooctaneamido amine oxide (PFOANO, CAS# 30295-53-5) and perfluorooctanesulfonamide amine (PFOSAm, CAS# 13417-01-1), and > 95 % for perfluorooctaneamido betaine (PFOAB, CAS# 90179-39-8) and perfluorooctanesulfonamido betaine (PFOSB, CAS# 75046-16-1).

$\text{C}_8\text{F}_{17}\text{SO}_2\text{NHC}_3\text{H}_6\text{N}(\text{CH}_3)_2$ is the key intermediate in the preparation of surfactants with a sulfonamide functional group. It was obtained by reacting perfluorooctane sulfonyl fluoride ($\text{C}_8\text{F}_{17}\text{SO}_2\text{F}$) with N,N-dimethyl-1,3-propanediamine. The other cationic/amphoteric/non-ionic

surfactants were produced by reacting $C_8F_{17}SO_2NHC_3H_6N(CH_3)_2$ with methyl iodide (CH_3I), sodium chloroacetate ($ClCH_2COONa$) and hydrogen peroxide (H_2O_2), respectively. The first two reactions are quaternizations while the last one is an oxidation. In a similar fashion, surfactants with the amide functional group were synthesized using $C_7F_{15}CONHC_3H_6N(CH_3)$ as the key intermediate.

1H and ^{19}F NMR spectroscopic experiments were performed on a Bruker ARX-400 spectrometer to confirm chemical structures and for purity analysis of final products.

Details on Sample Preparation

Sediment Samples

Sediment samples (~1 g dry weight (dw)) were weighed in 15 mL glass tubes. Following gravimetric addition of IS (~ 2 ng each) to the samples, the spiked IS were left to equilibrate with the sample material for > 1 h at room temperature. After addition of 5 mL of basic methanol (NaOH 20 mM in MeOH), samples were briefly vortexed and extracted in an ultrasonic bath for 20 min. Extracts were centrifuged (5000 rpm, 3 min) and the supernatants were transferred to clean 15 mL glass tubes. The ultrasonic extraction step was repeated once with 5 mL of basic methanol and a final rinse step was performed with 2 mL of basic methanol. The combined extracts were evaporated to approximately 2 mL under a gentle stream of N_2 and moderate heating (~40 °C), after which a clean-up step was performed using ENVI-Carb graphite cartridges (250 mg/6 mL) previously conditioned with 5 mL of MeOH. Extracts were passed through the ENVI-Carb sorbent and collected in 15 mL glass tubes. Cartridges were finally rinsed with 5 mL of MeOH and the resulting extracts were neutralized with formic acid. Extracts were evaporated to a final volume of 200 μ L (N_2 , ~40 °C), transferred to 250 μ L polypropylene vials, and stored at -20 °C until analysis.

Biota Samples

Upon IS addition (~ 2 ng each), the spiked ISs were left to equilibrate for > 1 h at room temperature with the sample material (~ 250 mg dw for fish muscle and whole body homogenates). After addition of 5 mL of basic methanol (MeOH containing 0.1 % (v/v) of NH_4OH), samples were briefly vortexed and extracted in an ultrasonic bath for 20 min. Extracts were centrifuged (5000 rpm, 3 min) and the supernatants were transferred to clean 15 mL glass tubes. The ultrasonic extraction step was repeated once with 5 mL of basic methanol and a final rinse step was performed with 2 mL of basic methanol. The combined extracts were evaporated to approximately 0.7 mL under a gentle stream of N_2 and moderate heating (~40 °C) after which a purification step was performed involving Strata X-AW and graphite ("tandem" clean-up). To this

end, extracts were diluted with 50 mL of HPLC-water and passed through Strata X-AW cartridges previously conditioned with 2 x 4 mL of MeOH/NH₄OH 0.2 % v/v and 5 mL of HPLC-water. After sample loading, cartridges were rinsed with 5 mL of Milli-Q water, dried under vacuum (45 min), and finally centrifuged (3 min, 5000 rpm). Analytes were recovered with 2 x 4 mL of MeOH/NH₄OH 0.2 %, the extracts being passed through ENVI-Carb graphite cartridges directly connected under the Strata X-AW cartridges and previously conditioned with MeOH (5 mL). Clean extracts were evaporated to a final volume of 200 µL (N₂, ~40 °C), transferred to 250 µL polypropylene vials, and stored at -20 °C until analysis.

Preparation of Quality Controls

Procedural blanks

Sediment procedural blanks (n = 7) consisted of glass tubes with solvent (NaOH 20 mM in MeOH) and IS (2 ng each) that went through the entire sediment analytical procedure except for sediment sample addition. Likewise, procedural blanks for the biota analysis method (n = 11) consisted of glass tubes with solvent (MeOH containing 0.1 % of NH₄OH v/v) and IS (2 ng each) that went through the entire biota analytical procedure except for fish tissue addition. Blank levels were expressed as quantity (ng in extract) (isotopic dilution method, solvent-based calibration curve). Therefore, the blank-correction of data (sediment and fish samples, reference material) was made prior to converting to concentrations.

Reference samples

Lake trout NIST SRM 1947 reference samples (n = 5) were freeze-dried (72h) prior to analysis. The sample material (~ 250 mg dry weight) went through the entire biota analytical procedure. Concentration was determined in ng g⁻¹ dry weight (isotopic dilution method, solvent-based calibration curve) and converted to ng g⁻¹ as received (wet weight) (moisture content = 72.26 %) to compare with the reference or information values of PFASs provided in Reiner et al. (2012).

Spiked samples

A sediment sample from the St. Lawrence River (Québec, Canada) and NIST SRM 1947 Lake trout fish tissue were used for fortification experiments (see below). Following addition of native analytes (5 ng each) to the samples (1 g dw and 250 mg dw of sample matrix for sediment and Lake trout, respectively), the spiked sediment (n = 3) and Lake trout (n = 3) samples went through their respective analytical procedures, except for IS addition which occurred at the end of the analytical procedure.

For each replicate, recovery (expressed in %) was calculated as follows:

$$\text{Recovery} = 100 * (\text{SB} - \text{NS}) / (\text{SA} - \text{NS})$$

where SB is the analyte to internal standard relative response ratio observed in a sample spiked before extraction with native analytes, SA is the analyte to internal standard relative response ratio observed in a sample spiked at the end of the analytical procedure with native analytes, and NS is the analyte to internal standard relative response ratio of the reference (non-spiked sample). In all three cases, IS were added at the end of the analytical procedure.

Using this methodology, the reported recovery rates should not be excessively affected by matrix effects. It should also be noted that the recovery rates reported in the present study correspond to whole method recoveries (i.e. all steps of the analytical preparation procedure including extraction, clean-up, and evaporation) rather than to extraction efficiencies only.

Chromatography and mass spectrometry settings

Chromatographic operating conditions were adapted from a procedure initially developed by Labadie and Chevreuil (2011). The Dionex Ultimate 3000 LC chain was controlled via the Chromeleon 7.2 Software (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA, and Dionex Softron GmbH part of Thermo Fisher Scientific, Germany). A Thermo Hypersil Gold aQ column (100 x 2.1 mm; dp = 1.9 µm) was used for analyte separation. The aqueous mobile phase (A) consisted of HPLC-water with 0.1% HCOOH (v/v) and the organic mobile phase (B) of ACN with 0.1% HCOOH (v/v). Flow rate was set at 0.55 mL min⁻¹, injection volume at 5 µL, and column inlet temperature at 40°C. Chromatographic gradient elution conditions were as follows: gradual increase of B channel from 10 to 72.5 % (0–7 min), and then from 72.5 to 100 % (7–8.5 min). The 0:100 A:B ratio was held for 4 minutes (8.5–12.5 min), then quickly returned to the 90:10 initial set up (12.5–12.6 min) which was kept constant for 2.9 minutes to allow the system to equilibrate (12.6–15.5 min). Prior to injection each injection, the injection needle was rinsed automatically with a 50:50 (v/v) MeOH/HPLC-water mixture.

The heated electrospray ionization source was used with the following settings: sheath gas flow rate was 40 arbitrary units (a.u.), auxiliary gas flow rate 15 a.u., sweep gas flow rate 0 a.u., capillary temperature 320°C and vaporizer temperature 350°C. Spray voltage was either -4 kV or +4 kV (fast polarity-switching mode). Analyte detection was performed using a Q-Exactive Orbitrap mass spectrometer controlled by the Xcalibur 2.3 software (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Orbitrap parameters were set as follows: AGC (maximum capacity in C-trap) was set at 5 x 10⁶, maximum injection time at 50 ms, and resolution at 70,000 FWHM at 200 m/z. The mass scan range was set at 150–1000 m/z (Full Scan mode).

Quantification strategy for PFAS analytes without authentic standards

Non-target PFAS analytes were quantified assuming equimolar response to a structurally-similar native compound (Qn or Sq PFAS analyte), when an applicable match was used; compounds are grouped according to quantification performance: i) indicative (QI); ii) semi-quantitative (Sq); and iii) quantitative (Qn) (see below).

i) Indicative (QI suspect analytes)

- 10:2 FTSAS and 10:2 FTSAS-sulfoxide were quantified against 6:2 FTSA and using $^{13}\text{C}_4$ -PFOS as internal standard. The concentration estimates obtained using this approach should be viewed as indicative only since the sensitivity of FTSAS-related compounds could be very different from that of 6:2 FTSA.
- Fluorotelomer thioether hydroxyammonium compounds (6:2 FTSHA, 8:2 FTSHA) and fluorotelomer sulfoxide hydroxyammonium compounds (6:2 FTSHA-sulfoxide and 8:2 FTSHA-sulfoxide) were quantified using the calibration curve of perfluorooctane sulfonamido ammonium (PFOSAmS) and $^{13}\text{C}_4$ -PFOS as internal standard. Concentrations should be viewed as indicative only because of the different structures of PFOSAmS and FTSHA-related compounds.
- FTBs (7:3, 9:3, 11:3, 13:3, 7:1:2, 9:1:2, 11:1:2, and 13:1:2 FTB), were quantified using the calibration curve of perfluorooctane sulfonamide betaine (PFOSB) and $^{13}\text{C}_4$ -PFOS as internal standard). Although PFOSB and FTBs are both betaine-based PFASs, FTBs lack the sulfonamide group following the fluoroalkyl chain. Therefore, the concentration estimates obtained using this approach should be viewed as indicative only since the sensitivity of FTBs could be very different from that of PFOSB.

ii) Semi-quantitative (Sq suspect analytes)

- 8:2 and 10:2 fluorotelomer sulfonamides were quantified against the calibration curve of the perfluoroalkyl analogue (perfluorooctane sulfonamide (FOSA)) and using $^{13}\text{C}_4$ -PFOS as internal standard. Using this approach, concentration estimate could be viewed as semi-quantitative due to the similarity in chemical structures between FOSA and fluorotelomer sulfonamides.
- Fluorotelomer sulfonamido amine-related compounds, including 6:2-M₁ (6:2 FTA), 8:2-M₁ (8:2 FTA), 10:2-M₁ (10:2 FTA) and 8:2-M₂, were quantified against the calibration curve of

PFOSAm (perfluorooctane sulfonamide amine) and using $^{13}\text{C}_4$ -PFOS as internal standard. Using this approach, concentration estimate could be viewed as semi-quantitative for FTA-related compounds due to the similarity in chemical structures between PFOSAm and FTAs.

- Fluorotelomer sulfonamido betaines (i.e., 6:2 FTAB, 8:2 FTAB, 10:2 FTAB and 12:2 FTAB) were quantified using the calibration curve of the perfluoroalkyl analogue (i.e. perfluorooctane sulfonamide betaine (PFOSB)) and $^{13}\text{C}_4$ -PFOS as internal standard. Using this approach, concentration estimate could be viewed as semi-quantitative due to the similarity in chemical structures between PFOSB and FTABs.

iii) Quantitative (Qn suspect analytes)

- 9:3 fluorotelomer carboxylate (9:3 FTCA) was quantified using the calibration curve for 7:3 FTCA and using $^{13}\text{C}_4$ -PFOA as internal standard. Therefore, concentration estimates could be viewed as quantitative, i) provided that the variations in sensitivity due to differences in chain length are minimal (i.e. if the chain-length adjustment factor is ~ 1 between 7:3 and 9:3 FTCA), and ii) if the IS (added at the beginning of the preparation procedure) corrects adequately for recovery losses and matrix effects.
- 8:2 FTSA and 10:2 FTSA were quantified using the calibration curve of their shorter-chain analogue (6:2 FTSA) and using $^{13}\text{C}_4$ -PFOS as internal standard. Using this approach, concentration estimates could be viewed as quantitative i) provided that the variations in sensitivity due to differences in chain length are minimal (i.e. if the chain-length adjustment factor is ~ 1), and ii) if the IS (added at the beginning of the preparation procedure) corrects adequately for recovery losses and matrix effects.

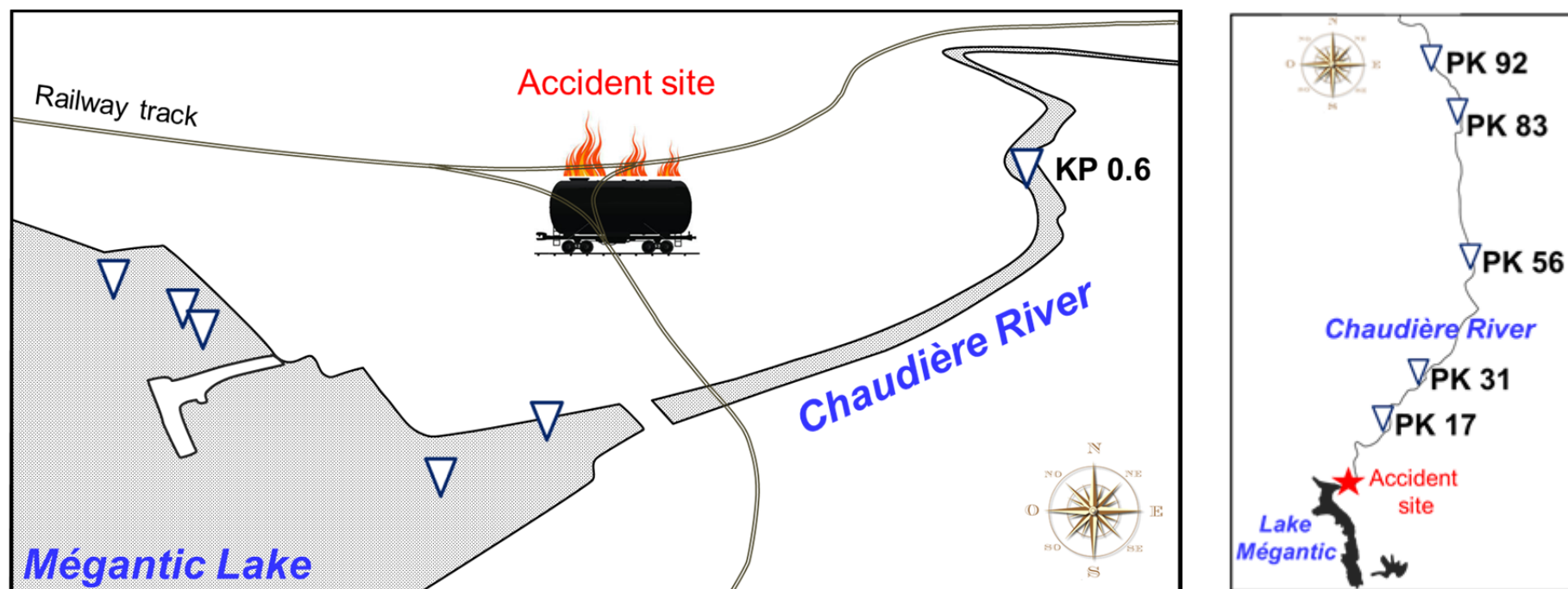
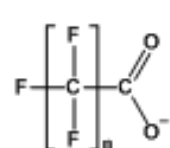


Fig.S1. Location of the sediment sampling sites in Lake Mégantic and along the Chaudière River (KP: kilometric point).

Perfluoroalkyl carboxylates Perfluoroalkyl sulfonates



(PFCAs)

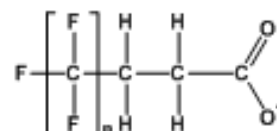
PFPeA	n = 4	Qn
PFHxA	n = 5	Qn
PFHpA	n = 6	Qn
PFOA	n = 7	Qn
PFNA	n = 8	Qn
PFDA	n = 9	Qn
PFUnDA	n = 10	Qn
PFDoDA	n = 11	Qn
PFTeDA	n = 12	Qn
PFTeDA	n = 13	Qn
PFHxDA	n = 15	Qn
PFOcDA	n = 17	Qn



(PFSAs)

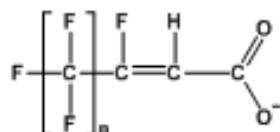
PFBS	n = 4	Qn
PFHxS	n = 6	Qn
PFOS	n = 8	Qn
PFDS	n = 10	Qn

Fluorotelomer Carboxylates (FTCAs)



5:3 FTCA	n = 5	Qn
7:3 FTCA	n = 7	Qn

Fluorotelomer Unsaturated Carboxylates (FTUAs)



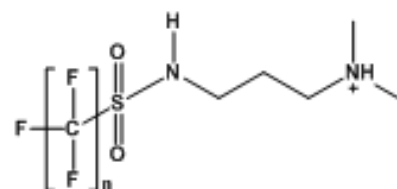
6:2 FTUA	n = 5	Qn
8:2 FTUA	n = 7	Qn

Perfluorooctane sulfonamide (FOSA)



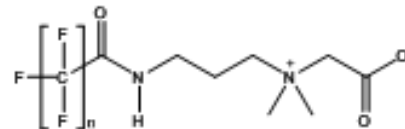
FOSA n = 8 Qn

Perfluorooctane sulfonamido amine (PFOSAm)



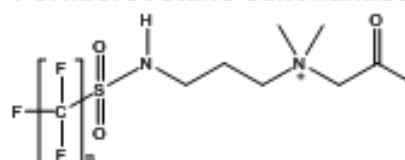
PFOSAm n=8 Sq

Perfluorooctane amide betaine (PFOAB)



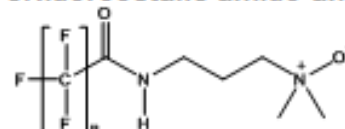
PFOAB n = 7 Sq

Perfluorooctane sulfonamide betaine (PFOSB)



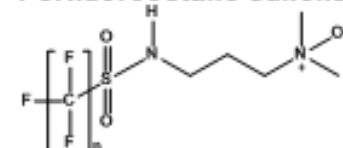
PFOSB n = 8 Sq

Perfluorooctane amido amine oxide (PFOANO)



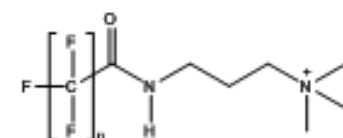
PFOANO n = 7 Sq

Perfluorooctane sulfonamido amine oxide (PFOSNO)



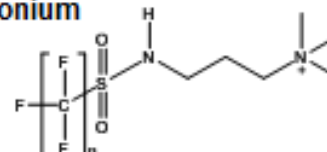
PFOSNO n = 8 Sq

Perfluorooctane amido ammonium (PFOAAmS)



PFOAAmS n = 7 Sq

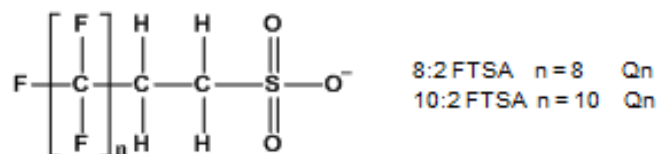
Perfluorooctane sulfonamido ammonium (PFOSAmS)



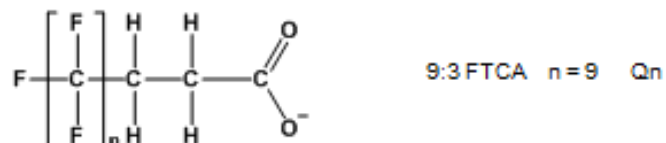
PFOSAmS n = 8 Sq

Fig.S2. Structures of model PFASs investigated in the present survey (Qn: quantitative; Sq: semi-quantitative).

Fluorotelomer sulfonates (FTSAs)



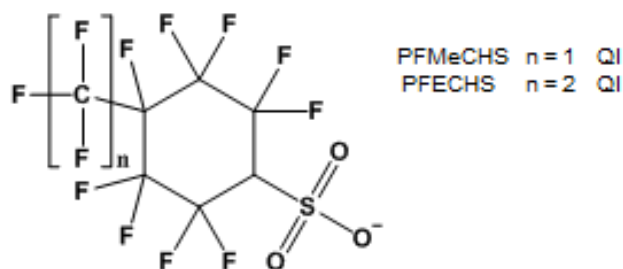
Fluorotelomer carboxylates (FTCAs)



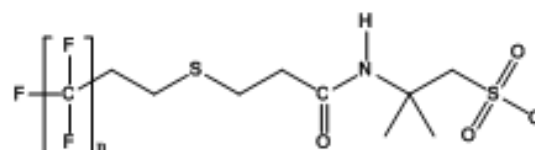
Perfluoroalkyl sulfonamide (FASA)



4-alkyl cyclohexane sulfonate (PFACHS)

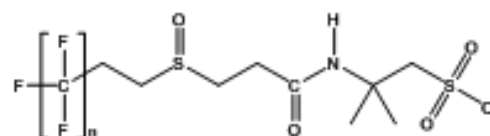


Fluorotelomermercaptoalkylamido sulfonate (FTSAS)



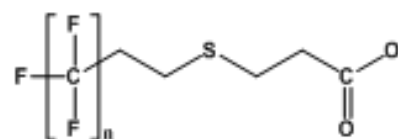
4:2 FTSAS $n=4$ QI
6:2 FTSAS $n=6$ QI
8:2 FTSAS $n=8$ QI
10:2 FTSAS $n=10$ QI
12:2 FTSAS $n=12$ QI
14:2 FTSAS $n=14$ QI

FTSAS-sulfoxide

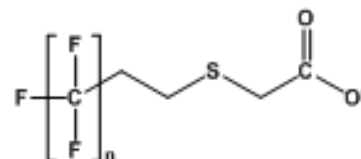


4:2 FTSAS-sulfoxide $n=4$ QI
6:2 FTSAS-sulfoxide $n=6$ QI
8:2 FTSAS-sulfoxide $n=8$ QI
10:2 FTSAS-sulfoxide $n=10$ QI

Fluorotelomermercaptoalkylcarboxylate (FTSC)



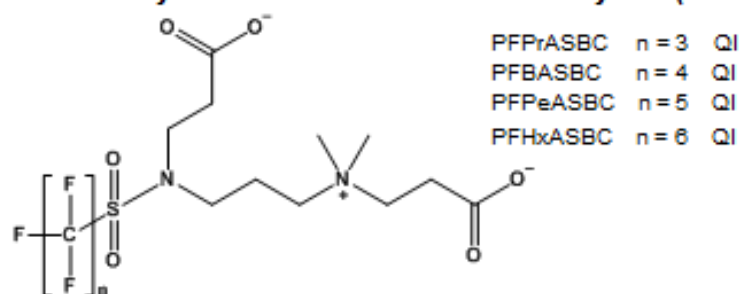
4:2:2 FTSC $n=4$ QI
6:2:2 FTSC $n=6$ QI
8:2:2 FTSC $n=8$ QI



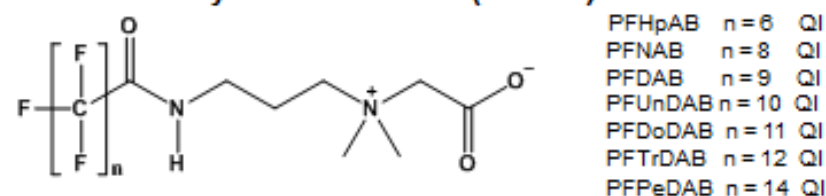
4:2:1 FTSC $n=4$ QI
6:2:1 FTSC $n=6$ QI
8:2:1 FTSC $n=8$ QI
10:2:1 FTSC $n=10$ QI

Fig.S3. Structures of suspect PFASs investigated in the present survey (QI: indicative; Sq: semi-quantitative; Qn: quantitative).

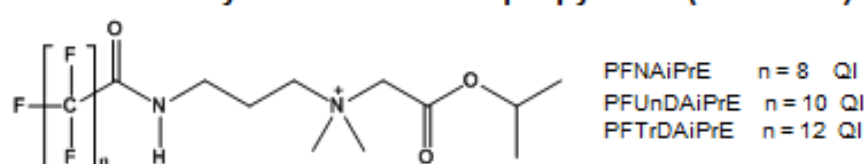
Perfluoroalkylsulfonamido betaine carboxylate (PFASBC)



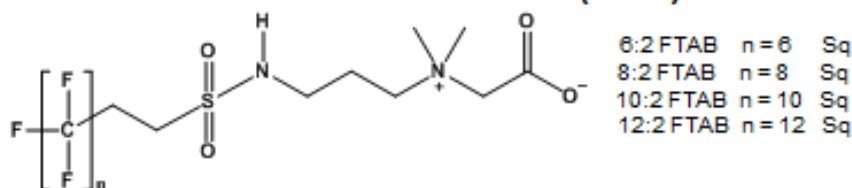
Perfluoroalkyl amido betaine (PFAAB)



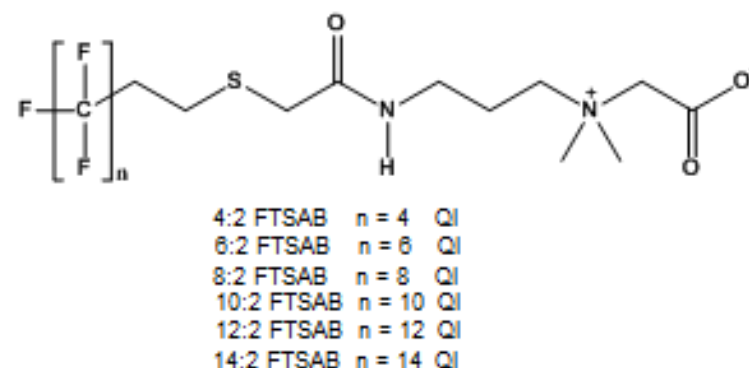
Perfluoroalkylamido amine isopropylester (PFAAiPrE)



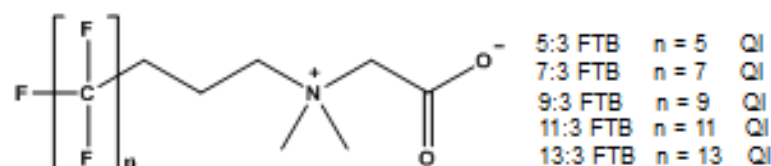
Fluorotelomer sulfonamido betaine (FTAB)



Fluorotelomerthioalkylamido betaine (FTSAB)



X:Y Fluorotelomer betaine (FTB)



X:Y:Z Fluorotelomer betaine (FTB)

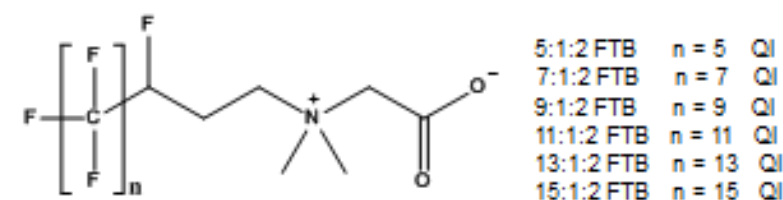
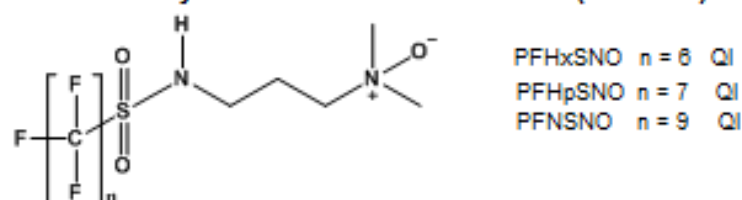
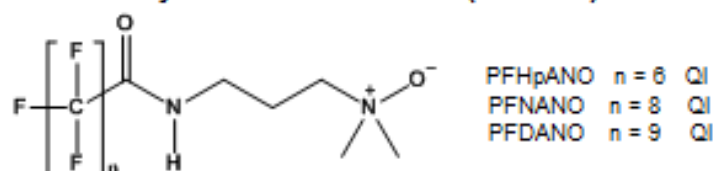


Fig.S3. (Continued).

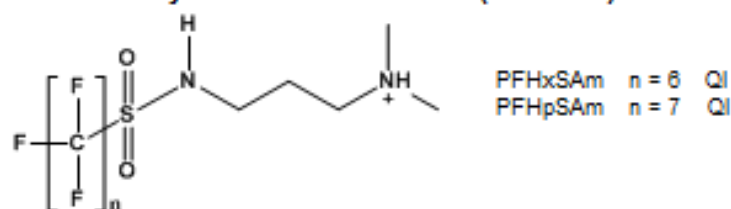
Perfluoroalkyl sulfonamido amine oxide (PFASNO)



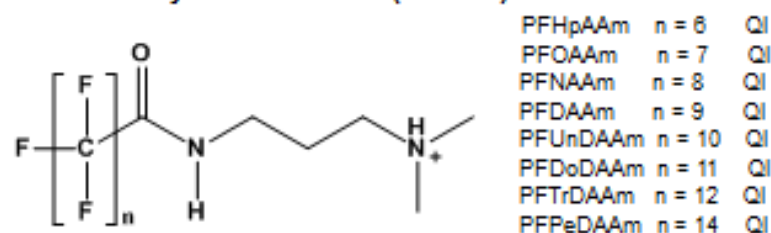
Perfluoroalkyl amido amine oxide (PFAANO)



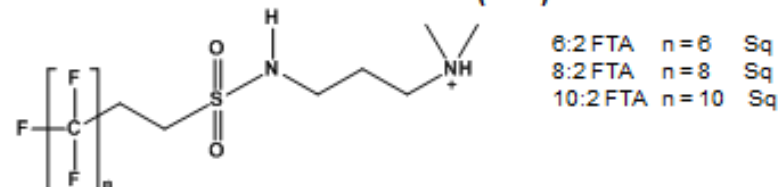
Perfluoroalkyl sulfonamido amine (PFASAm)



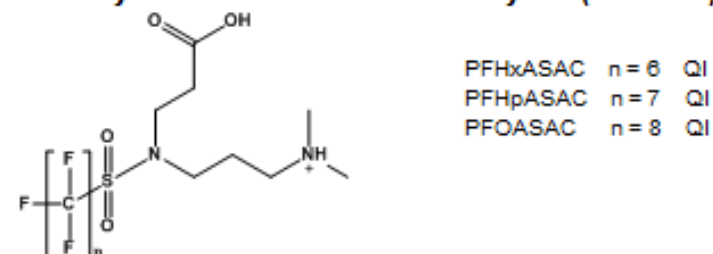
Perfluoroalkyl amido amine (PFAAm)



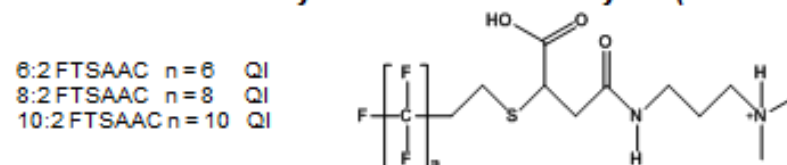
Fluorotelomer sulfonamido amine (FTA)



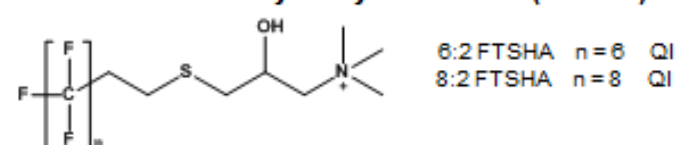
Perfluoroalkylsulfonamide amino carboxylate (PFASAC)



Fluorotelomerthioalkylamido amine carboxylate (FTSAAC)



Fluorotelomer thiohydroxyammonium (FTSHA)



FTSHA-sulfoxide

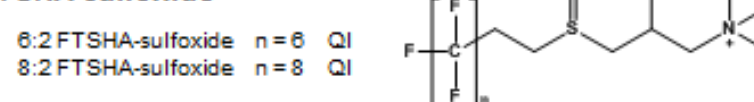
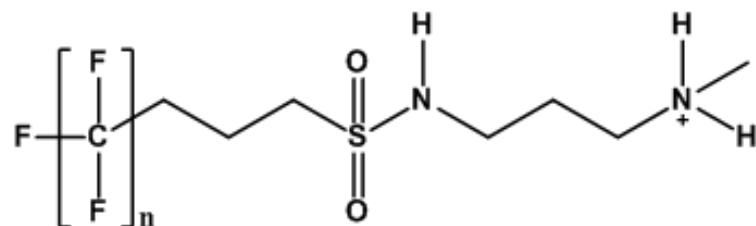


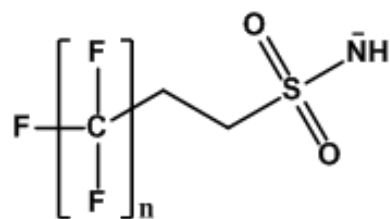
Fig.S3. (Continued).

n:2-M2



8:2-M2	n = 8	Sq
10:2-M2	n = 10	Sq

Fluorotélomère sulfonamide



8:2-fluorotélomère sulfonamide	n = 8	Sq
10:2-fluorotélomère sulfonamide	n = 10	Sq

Fig.S3. (Continued).

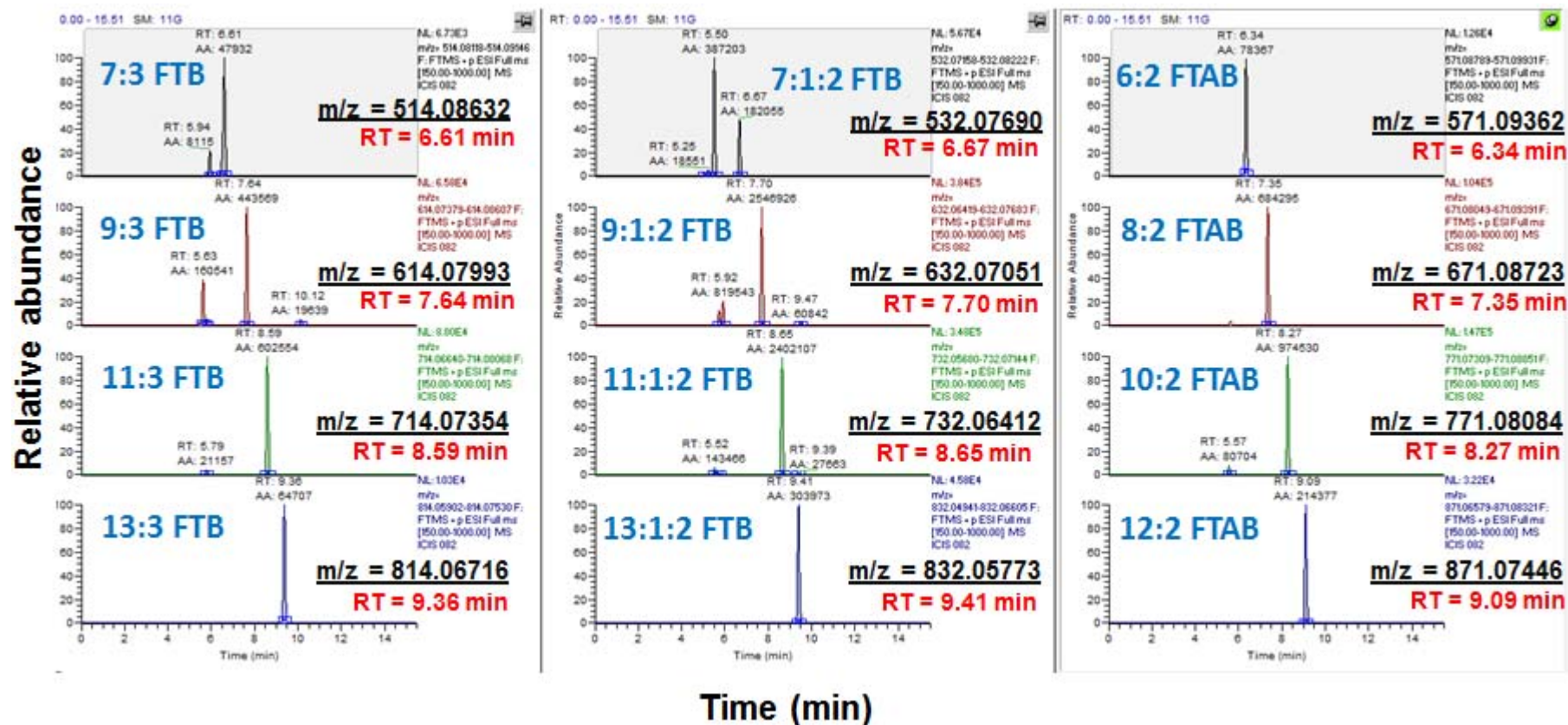


Fig.S4. Illustration of the chromatograms obtained in Full Scan mode for the identification of a suite of fluorotelomer betaines (FTBs) and fluorotelomer sulfonamide betaines (FTABs) in sediment sample KP 0.6 from the Chaudière River (AA: absolute area; RT: retention time).

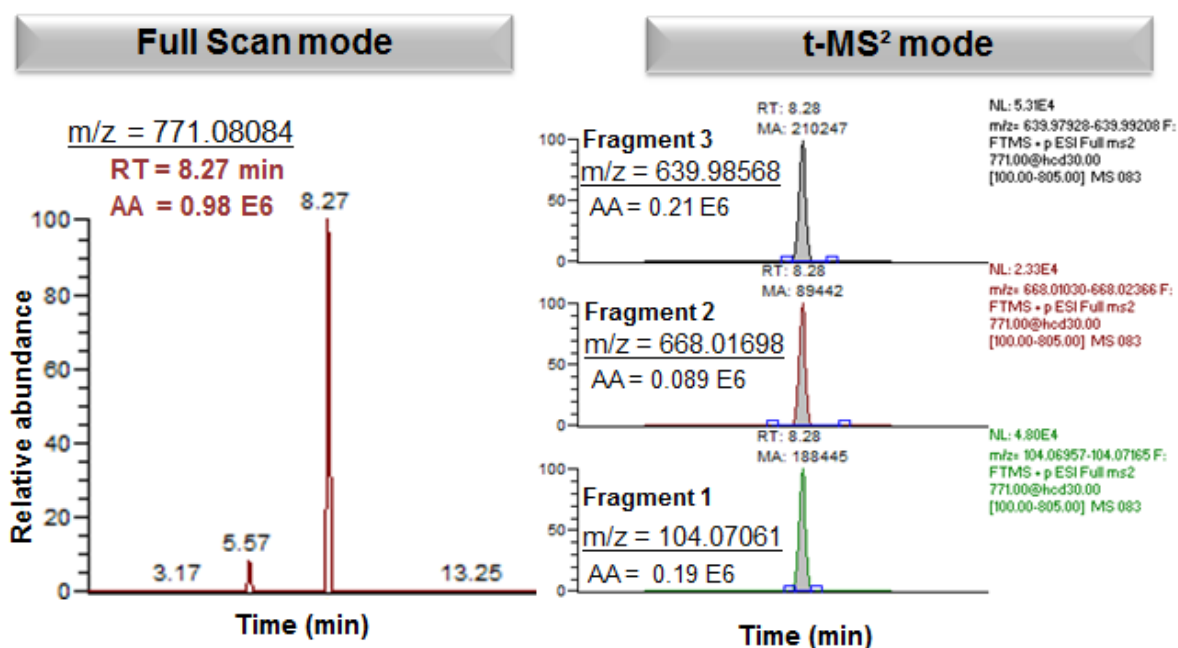


Fig.S5. Illustration of the chromatogram obtained in Full Scan mode and targeted t-MS² mode for structural confirmation of 10:2 FTAB in sediment sample KP 0.6 from the Chaudière River (AA: absolute area; RT: retention time).

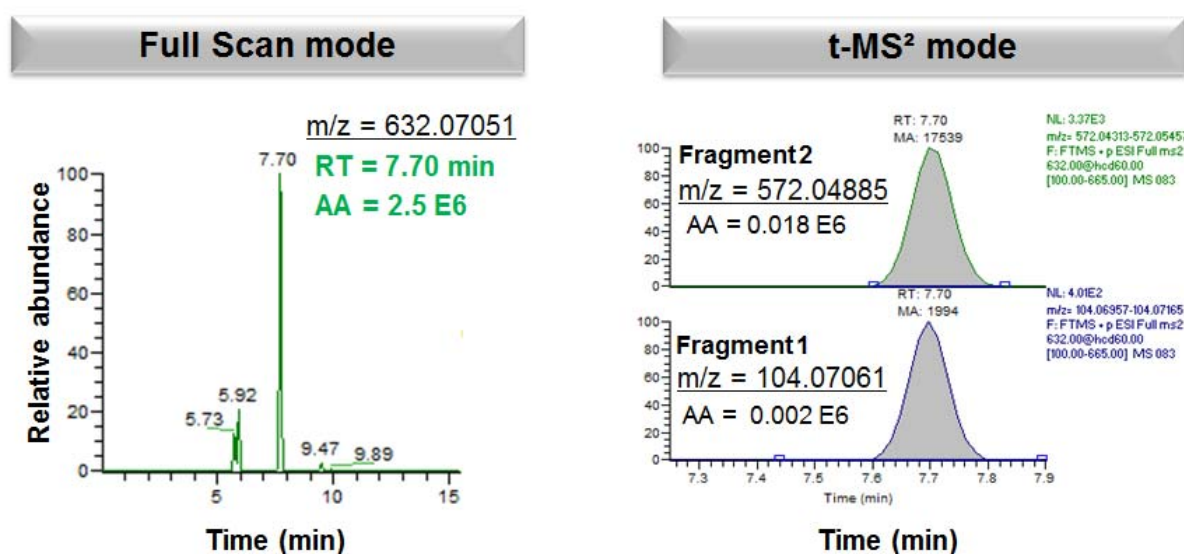


Fig.S6. Illustration of the chromatogram obtained in Full Scan mode and targeted t-MS² mode for structural confirmation of 9:1:2 FTB in sediment sample KP 0.6 from the Chaudière River (AA: absolute area; RT: retention time).

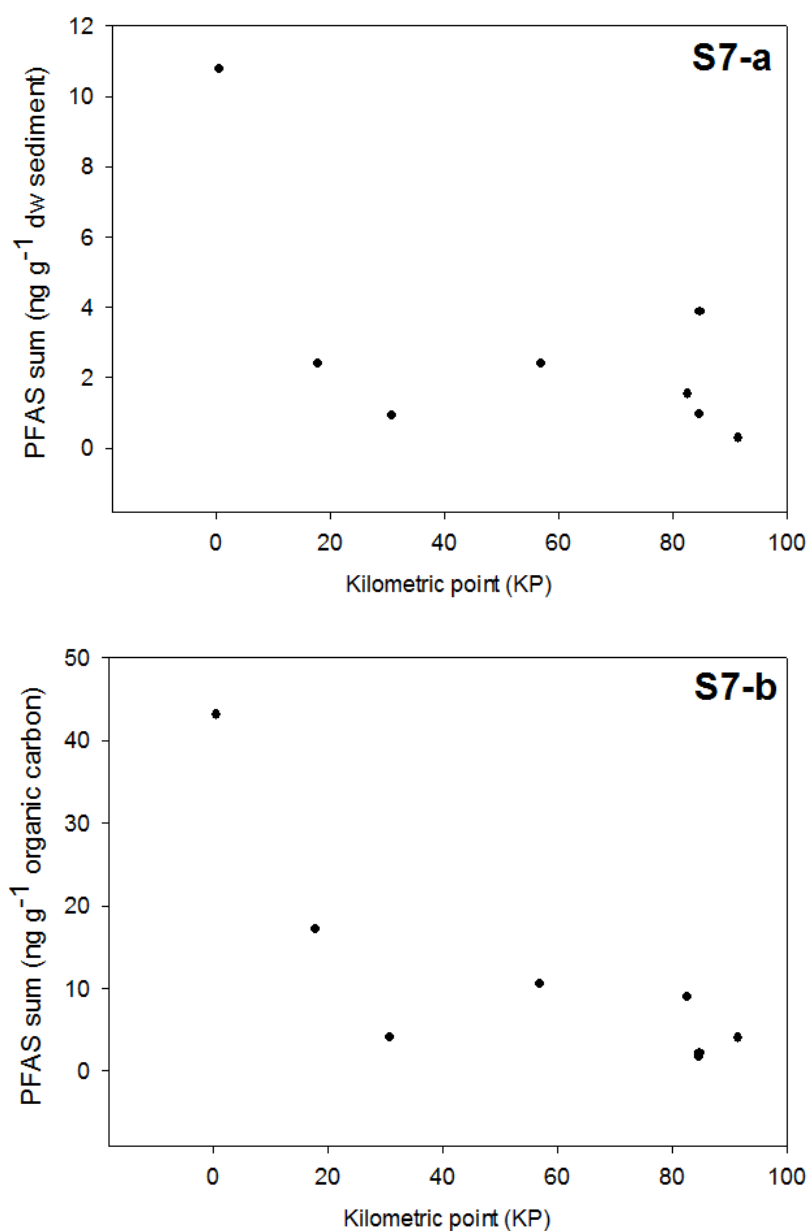


Fig.S7. Evolution of Σ PFAS in the sediment (ng g^{-1} dw) (**S7-a**) and in the sediment corrected for organic carbon content (ng g^{-1} organic carbon) (**S7-b**) along the Chaudière River.

Table S1. Details* on firefighting foam agents used at Lac-Mégantic derailment site.

Name	Chemical composition	Provider
Ansulite ARC 3x6	Diethylene glycol butyl ether (3–7 %) Other	Ansul
Chemguard AR-AFFF C363	Diethylene glycol butyl ether (4–7 %) Proprietary hydrocarbon surfactants (? %) Proprietary fluorosurfactant (? %) Polysaccharide gum (1–2 %) Water (70–80 %)	Chemguard
Niagara 1/3 AR-AFFF	Sodium Chloride (5–10 %) 2-methylpentane-2,4-diol (1–7 %) 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)-hexahydro-1,3,5-triazine (0.1–0.5 %) Iron (II) chloride (< 0.2 %) Water	Angus Fire
SILV-EX Plus	Lauryl alcohol (1–2.5 %) Propylene glycol (2.5–10 %) Other	Ansul
Thunderstorm FC-601A AR-AFFF	Diethylene glycol butyl ether (4–13 %) Proprietary hydrocarbon surfactants (? %) Proprietary fluorosurfactant (? %) Polysaccharide gum (1–2 %) Water	Williams Fire
Unifoam A4P 3/6 Foam	Diethylene glycol butyl ether (3–7 %) Perfluoroalkylated polymer (< 2%) Other	Unifoam
Universal Plus 3% / 6% AR-AFFF	Dipropylene glycol methyl ether Proprietary mixture of synthetic detergents (4–10 %) Fluoroalkyl surfactant (0.5–2 %) Polysaccharide (0.5–2 %) Water (78–93 %)	National Foam

*Data taken from Golder Associés, 2014.

Table S2. Details on native model analytes (N) and isotope-labeled internal standards (IS).

Acronym	Type	Compound name	Molecular formula	[M-H] ⁻ or [M+H] ⁺ or M ⁺	Theoretical m/z	Observed m/z	Δppm	RT	Corresponding IS
PFPeA	N	perfluoro-n-pentanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₃ CO ₂ H	C ₅ F ₉ O ₂ ⁻	262.97669	262.97682	0.49	4.10	MPFBA
PFHxA	N	perfluoro-n-hexanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₄ CO ₂ H	C ₆ F ₁₁ O ₂ ⁻	312.97335	312.97378	1.37	4.98	MPFHxA
PFHpA	N	perfluoro-n-heptanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₅ CO ₂ H	C ₇ F ₁₃ O ₂ ⁻	362.97013	362.97053	1.10	5.66	MPFOA
PFOA	N	perfluoro-n-octanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₆ CO ₂ H	C ₈ F ₁₅ O ₂ ⁻	412.96714	412.96694	0.48	6.25	MPFOA
PFNA	N	perfluoro-n-nonanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₇ CO ₂ H	C ₉ F ₁₇ O ₂ ⁻	462.96414	462.96385	0.63	6.78	MPFNA
PFDA	N	perfluoro-n-decanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₈ CO ₂ H	C ₁₀ F ₁₉ O ₂ ⁻	512.96066	512.96046	0.39	7.31	MPFDA
PFUnDA	N	perfluoro-n-undecanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₉ CO ₂ H	C ₁₁ F ₂₁ O ₂ ⁻	562.95740	562.95716	0.43	7.80	MPFUnA
PFDoDA	N	perfluoro-n-dodecanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₁₀ CO ₂ H	C ₁₂ F ₂₃ O ₂ ⁻	612.95461	612.95414	0.77	8.27	MPFDoA
PFTTrDA	N	perfluoro-n-tridecanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₁₁ CO ₂ H	C ₁₃ F ₂₅ O ₂ ⁻	662.95041	662.95118	1.16	8.71	MPFDoA
PFTeDA	N	perfluoro-n-tetradecanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₁₂ CO ₂ H	C ₁₄ F ₂₇ O ₂ ⁻	712.94808	712.94845	0.52	9.11	MPFDoA
PFHxDA	N	perfluoro-n-hexadecanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₁₄ CO ₂ H	C ₁₆ F ₃₁ O ₂ ⁻	812.94292	812.94229	0.77	9.72	MPFDoA
PFOcDA	N	perfluoro-n-octadecanoic acid	F ₃ C(CF ₂) ₁₆ CO ₂ H	C ₁₈ F ₃₅ O ₂ ⁻	912.93394	912.93597	2.22	10.19	MPFDoA
PFBS	N	n-perfluoro-1-butanedisulfonic acid	F ₃ C(CF ₂) ₃ SO ₃ H	C ₄ F ₉ SO ₃ ⁻	298.94326	298.94373	1.57	4.96	MPFHxS
PFHxS	N	n-perfluoro-1-hexanedisulfonic acid	F ₃ C(CF ₂) ₅ SO ₃ H	C ₆ F ₁₃ SO ₃ ⁻	398.93712	398.93685	0.68	6.35	MPFHxS
PFOS	N	n-perfluoro-1-octanedisulfonic acid	F ₃ C(CF ₂) ₇ SO ₃ H	C ₈ F ₁₇ SO ₃ ⁻	498.93126	498.93036	1.80	7.43	MPFOS
PFDS	N	n-perfluoro-1-decanedisulfonic acid	F ₃ C(CF ₂) ₉ SO ₃ H	C ₁₀ F ₂₁ SO ₃ ⁻	598.92487	598.92420	1.12	8.38	MPFOS
FOSA	N	perfluorooctanesulfonamide	F ₃ C(CF ₂) ₇ SO ₂ NH ₂	C ₈ F ₁₇ SO ₂ NH ⁺	497.94631	497.94609	0.44	8.59	MPFOS
6:2 FTUA	N	2H-perfluoro-2-octenoic acid (6:2)	F ₃ C(CF ₂) ₄ CF=CHCO ₂ H	C ₅ F ₁₁ CF=CHCO ₂ ⁻	356.97849	356.97945	2.69	7.41	MPFOA
8:2 FTUA	N	2H-perfluoro-2-decenoic acid (8:2)	F ₃ C(CF ₂) ₆ CF=CHCO ₂ H	C ₇ F ₁₅ CF=CHCO ₂ ⁻	456.97210	456.97300	1.97	8.55	MPFOA
5:3 FTCA	N	3-perfluoropentyl propanoic acid (5:3)	F ₃ C(CF ₂) ₄ CH ₂ CH ₂ CO ₂ H	C ₅ F ₁₁ CH ₂ CH ₂ CO ₂ ⁻	341.00356	341.00451	2.79	7.28	MPFOA

Table S2. (Continued).

Acronym	Type	Compound name	Molecular formula	[M-H] ⁻ or [M+H] ⁺ or M ⁺	Theoretical m/z	Observed m/z	Appm	RT	Corresponding IS
7 :3 FTCA	N	3-perfluoroheptyl propanoic acid (7:3)	F ₃ C(CF ₂) ₆ CH ₂ CH ₂ CO ₂ H	C ₇ F ₁₅ CH ₂ CH ₂ CO ₂ ⁻	440.99717	440.99799	1.86	8.39	MPFOA
PFOANO	N	<i>N,N</i> -dimethyl-3-(perfluorooctanamido)propan-1-amine oxide	C ₁₃ H ₁₃ F ₁₅ N ₂ O ₂	[C ₁₃ H ₁₄ F ₁₅ N ₂ O ₂] ⁺	515.08103	515.08124	0.41	6.56	MPFOS
PFOSNO	N	<i>N,N</i> -dimethyl-3-(perfluorooctylsulfonamido)propan-1-amine oxide	C ₁₃ H ₁₃ F ₁₇ N ₂ O ₃ S	[C ₁₃ H ₁₄ F ₁₇ N ₂ O ₃ S] ⁺	601.04482	601.04376	1.76	7.52	MPFOS
PFOSAm	N	<i>N</i> -(3-(Dimethylamino)propyl)-perfluorooctane-1-sulfonamide	C ₁₃ H ₁₃ F ₁₇ N ₂ O ₂ S	[C ₁₃ H ₁₄ F ₁₇ N ₂ O ₂ S] ⁺	585.04990	585.04962	0.48	7.48	MPFOS
PFOSAmS	N	<i>N,N,N</i> -trimethyl-3-(perfluorooctylsulfonamido)propan-1-aminium	C ₁₄ H ₁₆ F ₁₇ N ₂ O ₂ S ⁺	[C ₁₄ H ₁₆ F ₁₇ N ₂ O ₂ S] ⁺	599.06555	599.06504	0.85	7.54	MPFOS
PFOAAmS	N	<i>N,N,N</i> -trimethyl-perfluorooctanamido)propan-1-aminium	C ₁₅ H ₁₆ F ₁₅ N ₂ O ⁺	[C ₁₅ H ₁₆ F ₁₅ N ₂ O] ⁺	513.10176	513.10183	0.14	6.54	MPFOS
PFOSB	N	2-(dimethyl(3-(perfluorooctylsulfonamido)propyl)ammonio)acetate	C ₁₅ H ₁₆ F ₁₇ N ₂ O ₄ S	[C ₁₅ H ₁₆ F ₁₇ N ₂ O ₄ S] ⁺	643.05538	643.05449	1.38	7.33	MPFOS
PFOAB	N	2-(dimethyl(3-(perfluorooctanamido)propyl)ammonio)acetate	C ₁₅ H ₁₅ F ₁₅ N ₂ O ₃	[C ₁₅ H ₁₆ F ₁₅ N ₂ O ₃] ⁺	557.09159	557.09349	3.41	6.35	MPFOS
MPFBA	IS	perfluoro- <i>n</i> -[1,2,3,4- ¹³ C ₄]-bunatoic acid	¹³ C ₄ F ₇ O ₂ H	¹³ C ₄ F ₇ O ₂ ⁻	216.99177	216.99267	4.15	2.51	
MPFHxA	IS	perfluoro- <i>n</i> -[1,2- ¹³ C ₂]-hexanoic acid	¹² C ₃ ¹³ C ₂ F ₁₁ O ₂ H	¹² C ₃ ¹³ C ₂ F ₉ O ₂ ⁻	314.98039	314.98044	0.16	4.98	
MPFOA	IS	perfluoro- <i>n</i> -[1,2,3,4- ¹³ C ₄]-octanoic acid	¹² C ₄ ¹³ C ₄ F ₁₅ O ₂ H	¹² C ₄ ¹³ C ₄ F ₁₅ O ₂ ⁻	416.97975	416.98057	1.65	6.25	
MPFNA	IS	perfluoro- <i>n</i> -[1,2,3,4,5- ¹³ C ₅]-nonanoic acid	¹² C ₄ ¹³ C ₅ F ₁₇ O ₂ H	¹² C ₄ ¹³ C ₅ F ₁₇ O ₂ ⁻	467.97969	467.98022	1.88	6.78	
MPFDA	IS	perfluoro- <i>n</i> -[1,2- ¹³ C ₂]-decanoic acid	¹² C ₈ ¹³ C ₂ F ₁₉ O ₂ H	¹² C ₈ ¹³ C ₂ F ₁₉ O ₂ ⁻	514.96640	514.96692	1.01	7.31	
MPFUnDA	IS	perfluoro- <i>n</i> -[1,2- ¹³ C ₂]-undecanoic acid	¹² C ₉ ¹³ C ₂ F ₂₁ O ₂ H	¹² C ₉ ¹³ C ₂ F ₂₁ O ₂ ⁻	564.96326	564.96393	1.19	7.80	
MPFDODA	IS	perfluoro- <i>n</i> -[1,2- ¹³ C ₂]-dodecanoic acid	¹² C ₁₀ ¹³ C ₂ F ₂₃ O ₂ H	¹² C ₁₀ ¹³ C ₂ F ₂₃ O ₂ ⁻	614.96041	614.96051	0.16	8.27	
MPFHxS	IS	<i>n</i> -perfluoro-1-hexane [¹⁸ O ₂]sulfonic acid	C ₆ F ₁₃ S ¹⁸ O ₂ ¹⁶ O ₁ H	C ₆ F ₁₃ S ¹⁸ O ₂ ¹⁶ O ₁ ⁻	402.94505	402.94524	0.47	6.35	
MPFOS	IS	<i>n</i> -perfluoro-1-[1,2,3,4- ¹³ C ₄]-octanesulfonic acid	¹² C ₄ ¹³ C ₄ F ₁₇ SO ₃ H	¹² C ₄ ¹³ C ₄ F ₁₇ SO ₂ ⁻	502.94334	502.94357	0.46	7.43	

Table S3. List of PFAS suspects investigated in Full Scan mode in the present survey.

Acronym	Name	Formula [M-H] ⁻	Theoretical m/z
8:2 FTSA	8:2 fluorotelomer sulfonate	C ₁₀ F ₁₇ H ₄ SO ₃ ⁻	526.96097
10:2 FTSA	10:2 fluorotelomer sulfonate	C ₁₂ F ₂₁ H ₄ SO ₃ ⁻	626.95458
9:3 FTCA	9:3 fluorotelomer carboxylate	C ₁₂ F ₁₉ H ₄ O ₂ ⁻	540.99079
8:2 FOSA	8:2 fluorotelomer sulfonamide	C ₁₀ F ₁₇ H ₅ NSO ₂ ⁻	525.97695
10:2 FOSA	10:2 fluorotelomer sulfonamide	C ₁₂ F ₂₁ H ₅ NSO ₂ ⁻	625.97056
FHxSA	Perfluorohexane sulfonamide	C ₆ F ₁₃ HNSO ₂ ⁻	397.95204
PFECHS	Perfluoroethyl cyclohexane sulfonate	C ₈ F ₁₄ HSO ₃ ⁻	460.93286
PFMeCHS	Perfluoromethyl cyclohexane sulfonate	C ₇ F ₁₂ HSO ₃ ⁻	446.91721
6:2 FTSAS	6:2 fluorotelomer thioether amido sulfonate	C ₁₅ F ₁₃ H ₁₇ NS ₂ O ₄ ⁻	586.03914
8:2 FTSAS	8:2 fluorotelomer thioether amido sulfonate	C ₁₇ F ₁₇ H ₁₇ NS ₂ O ₄ ⁻	686.03275
10:2 FTSAS	10:2 fluorotelomer thioether amido sulfonate	C ₁₉ F ₂₁ H ₁₇ NS ₂ O ₄ ⁻	786.02636
12:2 FTSAS	12:2 fluorotelomer thioether amido sulfonate	C ₂₁ F ₂₅ H ₁₇ NS ₂ O ₄ ⁻	886.01997
14:2 FTSAS	14:2 fluorotelomer thioether amido sulfonate	C ₂₃ F ₂₉ H ₁₇ NS ₂ O ₄ ⁻	986.01359
6:2 FTSAS sulfoxide	6:2 fluorotelomer sulfoxide amido sulfonate	C ₁₅ F ₁₃ H ₁₇ NS ₂ O ₅ ⁻	602.03406
8:2 FTSAS sulfoxide	8:2 fluorotelomer sulfoxide amido sulfonate	C ₁₇ F ₁₇ H ₁₇ NS ₂ O ₅ ⁻	702.02767
10:2 FTSAS sulfoxide	10:2 fluorotelomer sulfoxide amido sulfonate	C ₁₉ F ₂₁ H ₁₇ NS ₂ O ₅ ⁻	802.02128
6:2:2 FTSC	6:2 fluorotelomer thioether propanoate	C ₁₁ F ₁₃ H ₈ SO ₂ ⁻	451.00374
8:2:2 FTSC	8:2 fluorotelomer thioether propanoate	C ₁₃ F ₁₇ H ₈ SO ₂ ⁻	550.99735
6:2:1 FTSC	6:2 fluorotelomer thioether ethanoate	C ₁₀ F ₁₃ H ₆ SO ₂ ⁻	436.98809
8:2:1 FTSC	8:2 fluorotelomer thioether ethanoate	C ₁₂ F ₁₇ H ₆ SO ₂ ⁻	536.98170
10:2:1 FTSC	10:2 fluorotelomer thioether ethanoate	C ₁₄ F ₂₁ H ₆ SO ₂ ⁻	636.97531
PFPrASBC	Perfluoropropane amido betaine carboxylate	C ₁₄ F ₇ H ₂₀ N ₂ SO ₆ ⁻	477.09303
PFBASBC	Perfluorobutane amido betaine carboxylate	C ₁₅ F ₉ H ₂₀ N ₂ SO ₆ ⁻	527.08984
PFPeASBC	Perfluoropentane amido betaine carboxylate	C ₁₆ F ₁₁ H ₂₀ N ₂ SO ₆ ⁻	577.08664
PFHxASBC	Perfluorohexane amido betaine carboxylate	C ₁₇ F ₁₃ H ₂₀ N ₂ SO ₆ ⁻	627.08345

Table S3. (Continued)

Acronym	Name	Formula [M+H] ⁺	Theoretical m/z
PFHpAB	perfluoroheptane amide betaine	C ₁₄ F ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₃ ⁺	507.09533
PFNAB	perfluorononane amide betaine	C ₁₆ F ₁₇ H ₁₆ N ₂ O ₃ ⁺	607.08894
PFDAB	perfluorodecane amide betaine	C ₁₇ F ₁₉ H ₁₆ N ₂ O ₃ ⁺	657.08575
PFUnDAB	perfluoroundecane amide betaine	C ₁₈ F ₂₁ H ₁₆ N ₂ O ₃ ⁺	707.08256
PFDoDAB	perfluorododecane amide betaine	C ₁₉ F ₂₃ H ₁₆ N ₂ O ₃ ⁺	757.07936
PFTTrDAB	perfluorotridecane amide betaine	C ₂₀ F ₂₅ H ₁₆ N ₂ O ₃ ⁺	807.07617
PFPeDAB	perfluoropentadecane amide betaine	C ₂₂ F ₂₉ H ₁₆ N ₂ O ₃ ⁺	907.06978
PFNAiPrE	perfluorononane amido amine isopropyl acetate	C ₁₈ F ₁₇ H ₂₂ N ₂ O ₃ ⁺	637.13589
PFUnDAiPrE	perfluoroundecane amido amine isopropyl acetate	C ₂₀ F ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₃ ⁺	737.12951
PFTTrDAiPrE	perfluorotridecane amido amine isopropyl acetate	C ₂₂ F ₂₅ H ₂₂ N ₂ O ₃ ⁺	837.12312
6:2 FTAB	6:2 fluorotelomer sulfonamide betaine	C ₁₅ F ₁₃ H ₂₀ N ₂ SO ₄ ⁺	571.09362
8:2 FTAB	8:2 fluorotelomer sulfonamide betaine	C ₁₇ F ₁₇ H ₂₀ N ₂ SO ₄ ⁺	671.08723
10:2 FTAB	10:2 fluorotelomer sulfonamide betaine	C ₁₉ F ₂₁ H ₂₀ N ₂ SO ₄ ⁺	771.08084
12:2 FTAB	12:2 fluorotelomer sulfonamide betaine	C ₂₁ F ₂₅ H ₂₀ N ₂ SO ₄ ⁺	871.07446
4:2 FTSAB	4:2 fluorotelomer thioether amido betaine	C ₁₅ F ₉ H ₂₂ N ₂ SO ₃ ⁺	481.12074
6:2 FTSAB	6:2 fluorotelomer thioether amido betaine	C ₁₇ F ₁₃ H ₂₂ N ₂ SO ₃ ⁺	581.11435
8:2 FTSAB	8:2 fluorotelomer thioether amido betaine	C ₁₉ F ₁₇ H ₂₂ N ₂ SO ₃ ⁺	681.10797
10:2 FTSAB	10:2 fluorotelomer thioether amido betaine	C ₂₁ F ₂₁ H ₂₂ N ₂ SO ₃ ⁺	781.10158
12:2 FTSAB	12:2 fluorotelomer thioether amido betaine	C ₂₃ F ₂₅ H ₂₂ N ₂ SO ₃ ⁺	881.09519
14:2 FTSAB	14:2 fluorotelomer thioether amido betaine	C ₂₅ F ₂₉ H ₂₂ N ₂ SO ₃ ⁺	981.08880
5:3 FTB	5:3 fluorotelomer betaine	C ₁₂ F ₁₁ H ₁₅ NO ₂ ⁺	414.09271
7:3 FTB	7:3 fluorotelomer betaine	C ₁₄ F ₁₅ H ₁₅ NO ₂ ⁺	514.08632
9:3 FTB	9:3 fluorotelomer betaine	C ₁₆ F ₁₉ H ₁₅ NO ₂ ⁺	614.07993
11:3 FTB	11:3 fluorotelomer betaine	C ₁₈ F ₂₃ H ₁₅ NO ₂ ⁺	714.07354
13:3 FTB	13:3 fluorotelomer betaine	C ₂₀ F ₂₇ H ₁₅ NO ₂ ⁺	814.06716
5:1:2 FTB	5:1:2 fluorotelomer betaine	C ₁₂ F ₁₂ H ₁₄ NO ₂ ⁺	432.08329
7:1:2 FTB	7:1:2 fluorotelomer betaine	C ₁₄ F ₁₆ H ₁₄ NO ₂ ⁺	532.07690
9:1:2 FTB	9:1:2 fluorotelomer betaine	C ₁₆ F ₂₀ H ₁₄ NO ₂ ⁺	632.07051
11:1:2 FTB	11:1:2 fluorotelomer betaine	C ₁₈ F ₂₄ H ₁₄ NO ₂ ⁺	732.06412
13:1:2 FTB	13:1:2 fluorotelomer betaine	C ₂₀ F ₂₈ H ₁₄ NO ₂ ⁺	832.05773
15:1:2 FTB	15:1:2 fluorotelomer betaine	C ₂₂ F ₃₂ H ₁₄ NO ₂ ⁺	932.05135

Table S3. (Continued)

Acronym	Name	Formula [M+H] ⁺	Theoretical m/z
PFHxSNO	perfluorohexane sulfonamido amine oxide	C ₁₁ F ₁₃ H ₁₄ N ₂ SO ₃ ⁺	501.05175
PFHpSNO	perfluoroheptane sulfonamido amine oxide	C ₁₂ F ₁₅ H ₁₄ N ₂ SO ₃ ⁺	551.04856
PFNSNO	perfluorononane sulfonamido amine oxide	C ₁₄ F ₁₉ H ₁₄ N ₂ SO ₃ ⁺	651.04217
PFHpANO	perfluoroheptane amido amine oxide	C ₁₂ F ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₂ ⁺	465.08476
PFNANO	perfluorononane amido amine oxide	C ₁₄ F ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ ⁺	565.07838
PFDANO	perfluorodecane amido amine oxide	C ₁₅ F ₁₉ H ₁₄ N ₂ O ₂ ⁺	615.07518
PFHxSAm	perfluorohexane sulfonamido amine	C ₁₁ F ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₂ S ⁺	485.05684
PFHpSAm	perfluoroheptane sulfonamido amine	C ₁₂ F ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₂ S ⁺	535.05365
PFHpAAm	perfluoroheptane amido amine	C ₁₂ F ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ⁺	449.08985
PFOAAm	perfluorooctane amido amine	C ₁₃ F ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ⁺	499.08666
PFNAAm	perfluorononane amido amine	C ₁₄ F ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ⁺	549.08346
PFDAAm	perfluorodecane amido amine	C ₁₅ F ₁₉ H ₁₄ N ₂ O ⁺	599.08027
PFUnDAAm	perfluoroundecane amido amine	C ₁₆ F ₂₁ H ₁₄ N ₂ O ⁺	649.07708
PFDODAAm	perfluorododecane amido amine	C ₁₇ F ₂₃ H ₁₄ N ₂ O ⁺	699.07388
PFTrDAAm	perfluorotridecane amido amine	C ₁₈ F ₂₅ H ₁₄ N ₂ O ⁺	749.07069
PFPEDAAm	perfluoropentadecane amido amine	C ₂₀ F ₂₉ H ₁₄ N ₂ O ⁺	849.06430
6:2 FTA	6:2 fluorotelomer sulfonamido N,N-dimethyl amine	C ₁₃ F ₁₃ H ₁₈ N ₂ O ₂ S ⁺	513.08814
8:2 FTA	8:2 fluorotelomer sulfonamido N,N-dimethyl amine	C ₁₅ F ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₂ S ⁺	613.08175
10:2 FTA	10:2 fluorotelomer sulfonamido N,N-dimethyl amine	C ₁₇ F ₂₁ H ₁₈ N ₂ O ₂ S ⁺	713.07536
8:2-M2	8:2 fluorotelomer sulfonamido N-monomethyl amine	C ₁₄ F ₁₇ H ₁₆ N ₂ O ₂ S ⁺	599.06610
10:2-M2	10:2 fluorotelomer sulfonamido N-monomethyl amine	C ₁₆ F ₂₁ H ₁₆ N ₂ O ₂ S ⁺	699.05971
PFHxASAC	perfluorohexane sulfonamide amino carboxylate	C ₁₄ F ₁₃ H ₁₈ N ₂ O ₄ S ⁺	557.07797
PFHpASAC	perfluoroheptane sulfonamide amino carboxylate	C ₁₅ F ₁₅ H ₁₈ N ₂ O ₄ S ⁺	607.07478
PFOASAC	perfluorooctane sulfonamide amino carboxylate	C ₁₆ F ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₄ S ⁺	657.07158
6:2 FTSAAC	6:2 fluorotelomer thioether amido amine carboxylate	C ₁₇ F ₁₃ H ₂₂ N ₂ O ₃ S ⁺	581.11435
8:2 FTSAAC	8:2 fluorotelomer thioether amido amine carboxylate	C ₁₉ F ₁₇ H ₂₂ N ₂ O ₃ S ⁺	681.10797
10:2 FTSAAC	10:2 fluorotelomer thioether amido amine carboxylate	C ₂₁ F ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₃ S ⁺	781.10158
6:2 FTSHA	6:2 fluorotelomer thioether hydroxyammonium	C ₁₄ F ₁₃ H ₁₉ NOS ⁺	496.09798
8:2 FTSHA	8:2 fluorotelomer thioether hydroxyammonium	C ₁₆ F ₁₇ H ₁₉ NOS ⁺	596.09159
6:2 FTSHA-sulfoxide	6:2 fluorotelomer sulfoxide hydroxyammonium	C ₁₄ F ₁₃ H ₁₉ NO ₂ S ⁺	512.09289
8:2 FTSHA-sulfoxide	8:2 fluorotelomer sulfoxide hydroxyammonium	C ₁₆ F ₁₇ H ₁₉ NO ₂ S ⁺	612.08650

Table S4. PFAS levels in procedural blanks (n=7), limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) of the **sediment analysis procedure**. LODs were derived (i) from the standard deviation of 7 procedural blanks multiplied by the $t_{6,95\%}$ Student coefficient, or (ii) from the calibration curve, based on the error on the y-intercept, the slope of the regression and the quantity of IS added. The LOQ was either set at 3.3 x LOD (a) or at the lowest point of the linearity range (b).

	Levels in procedural blanks (ng)	LOD (ng g ⁻¹ dw)	LOD calculation method	LOQ (ng g ⁻¹ dw)	LOQ calculation method
PFPeA	nd	0.007	ii	0.02	a
PFHxA	0.022 ± 0.016	0.04	i	0.1	a
PFHpA	0.011 ± 0.0031	0.008	i	0.02	a
PFOA	0.50 ± 0.099	0.2	i	0.7	a
PFNA	nd	0.01	ii	0.03	a
PFDA	0.0041 ± 0.0014	0.003	i	0.01	a
PFUnDA	0.0064 ± 0.0018	0.004	i	0.01	a
PFDoDA	0.0027 ± 0.0024	0.006	i	0.02	a
PFTTrDA	0.00073 ± 0.0010	0.003	i	0.008	a
PFTeDA	0.0028 ± 0.0020	0.005	i	0.02	a
PFHxDA	0.018 ± 0.012	0.03	i	0.09	a
PFOcDA	0.015 ± 0.023	0.06	i	0.2	a
PFBS	nd	0.002	ii	0.006	a
PFHxS	0.0081 ± 0.00086	0.002	i	0.006	a
PFOS	0.00029 ± 0.00037	0.0009	i	0.003	a
PFDS	nd	0.004	ii	0.01	a
FOSA	0.000086 ± 0.00023	0.0006	i	0.002	b
6:2 FTUA	nd	0.06	ii	0.2	a
8:2 FTUA	nd	0.02	ii	0.06	a
5:3 FTCA	nd	0.05	ii	0.1	a
7:3 FTCA	nd	0.04	ii	0.1	a
PFOAB	nd	0.02	ii	0.05	a
PFOSB	nd	0.03	ii	0.1	b
PFOANO	nd	0.009	ii	0.03	a
PFOSNO	nd	0.02	ii	0.1	b
PFOAAmS	nd	0.5	ii	1.4	a
PFOSAmS	nd	0.05	ii	0.1	a
PFOSAm	nd	0.03	ii	0.1	a

Table S5. PFAS levels in procedural blanks (n=11), limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) of the **biota analysis procedure**. LODs were derived (i) from the standard deviation of 11 procedural blanks multiplied by the $t_{10;95\%}$ Student coefficient, or (ii) from the calibration curve, based on the error on the y-intercept and the slope of the regression, and the quantity of IS added. The LOQ was either set at 3.3 x LOD (a) or at the lowest point of the linearity range (b).

	Levels in procedural blanks (ng)	LOD (ng g ⁻¹ ww)	LOD calculation method	LOQ (ng g ⁻¹ ww)	LOQ calculation method
PFPeA	nd	0.006	ii	0.018	a
PFHxA	0.023 ± 0.014	0.02	i	0.073	a
PFHpA	0.012 ± 0.0033	0.006	i	0.018	a
PFOA	0.63 ± 0.13	0.2	i	0.681	a
PFNA	0.00022 ± 0.00072	0.001	i	0.004	a
PFDA	0.0026 ± 0.0027	0.005	i	0.014	a
PFUnDA	0.0090 ± 0.0027	0.005	i	0.014	a
PFDoDA	0.0081 ± 0.0069	0.01	i	0.037	a
PFTTrDA	0.013 ± 0.018	0.03	i	0.096	a
PFTeDA	0.027 ± 0.037	0.07	i	0.198	a
PFHxDA	0.069 ± 0.073	0.13	i	0.391	a
PFOcDA	0.072 ± 0.086	0.15	i	0.462	a
PFBS	0.024 ± 0.012	0.02	i	0.062	a
PFHxS	0.0097 ± 0.0008	0.001	i	0.004	a
PFOS	0.0030 ± 0.0011	0.002	i	0.006	a
PFDS	0.00072 ± 0.0024	0.004	i	0.013	a
FOSA	0.00090 ± 0.0024	0.004	i	0.013	a
6:2 FTUA	nd	0.05	ii	0.144	a
8:2 FTUA	nd	0.02	ii	0.048	a
5:3 FTCA	nd	0.04	ii	0.120	a
7:3 FTCA	nd	0.03	ii	0.096	a
PFOAB	nd	0.02	ii	0.048	a
PFOSB	nd	0.02	ii	0.08	b
PFOANO	nd	0.01	ii	0.02	a
PFOSNO	nd	0.02	ii	0.08	b
PFOAAmS	nd	0.4	ii	1	a
PFOSAmS	nd	0.04	ii	0.1	a
PFOSAm	nd	0.02	ii	0.08	b

Table S6. Summary of recovery rates (%) in the sediment (n = 3) and biota (n = 3) matrices.

	Recovery in spiked sediment (%)	Recovery in spiked trout (%)
PFPeA	88 ± 5	80 ± 2
PFHxA	89 ± 4	84 ± 3
PFHpA	91 ± 4	83 ± 3
PFOA	93 ± 5	85 ± 3
PFNA	90 ± 2	87 ± 3
PFDA	93 ± 3	88 ± 2
PFUnDA	89 ± 2	89 ± 3
PFDoDA	91 ± 5	87 ± 3
PFTrDA	92 ± 5	84 ± 1
PFTeDA	89 ± 4	76 ± 10
PFHxDA	90 ± 4	39 ± 2
PFOcDA	86 ± 3	39 ± 11
PFBS	92 ± 3	90 ± 4
PFHxS	89 ± 4	90 ± 3
PFOS	90 ± 6	90 ± 4
PFDS	90 ± 3	88 ± 2
FOSA	91 ± 5	71 ± 2
6:2 FTUA	60 ± 1	68 ± 11
8:2 FTUA	65 ± 2	61 ± 8
5:3 FTCA	97 ± 3	55 ± 7
7:3 FTCA	91 ± 1	59 ± 9
PFOAB	73 ± 7	89 ± 2
PFOSB	88 ± 4	76 ± 2
PFOANO	93 ± 1	90 ± 3
PFOSNO	85 ± 2	98 ± 11
PFOAAmS	68 ± 5	51 ± 3
PFOSAmS	97 ± 2	50 ± 15
PFOSAm	110 ± 5	64 ± 12

Table S7. PFAS concentrations in NIST SRM 1947 reference material (Lake trout tissue) determined in the present study (n = 5) and in the literature. Concentrations are all given in ng g⁻¹ wet weight.

	Present study	Lescord et al. 2015	Reiner et al. 2012 Reference*
PFPeA	0.054 ± 0.013	-	-
PFHxA	0.050 ± 0.016	-	-
PFHpA	0.043 ± 0.017	-	-
PFNA	0.20 ± 0.0067	0.26	0.20 **
PFDA	0.21 ± 0.0073	0.25	0.26 **
PFUnDA	0.31 ± 0.0072	0.36	0.28 **
PFDODA	0.12 ± 0.012	-	-
PFTTrDA	0.19 ± 0.010	0.31	0.20 **
PFTeDA	0.052 ± 0.0031	-	-
PFHxS	0.022 ± 0.0034	-	-
PFOS	5.53 ± 0.13	6.65	5.90 ± 0.39 ***
PFDS	0.11 ± 0.0074	-	-
FOSA	0.13 ± 0.020	-	-

*Reference: concentrations determined by Reiner et al. (2012) based on an international intercomparison exercise involving NIST, University of Toronto, Environment Canada, US EPA, 3M, Bundesamt fuer Seeschifffahrt und Hydrographie (Federal Maritime and Hydrographic Agency of Germany), and Wageningen IMARES (Institute of Marine Resources and Ecosystem Studies). **Information values. ***Calculated reference value.

Table S8. Assessment of matrix effects through comparison between the slope of the solvent-based calibration curve and that of the matrix-based one (standard additions).

	Matrix effect (%) Sediment	Matrix effect (%) Fish Muscle
PFPeA	-6	+30
PFHxA	-2	+5
PFHpA	0	+4
PFOA	-22	+5
PFNA	0	+3
PFDA	-2	-1
PFUnDA	-3	+3
PFDoDA	-2	-1
PFTTrDA	-9	-1
PFTeDA	+1	0
PFHxDA	-1	-10
PFOcDA	-4	-41
PFBS	-3	-5
PFHxS	-1	+2
PFOS	-1	+2
PFDS	+6	0
FOSA	+7	-9
6:2 FTUA	+11	+31
8:2 FTUA	+13	+82
5:3 FTCA	+11	-33
7:3 FTCA	+17	-2
PFOAB	-16	-37
PFOSB	-20	-38
PFOANO	-38	-33
PFOSNO	-41	-24
PFOAAmS	-14	-36
PFOSAmS	-17	-46
PFOSAm	-4	-26

Table S9. Details on the solvent-based calibration curve (1/x weighted linear regressions), including coefficients of determination (R^2), linearity range, and deviation between observed (y) and calculated-back (\hat{y}) relative responses.

	R^2	Linearity range (ng mL ⁻¹)	Deviation (%) at lowest calibration level	Deviation (%) at highest calibration level	Deviation range (%) over whole linear range
PFPeA	0.9999	0.05–40	+1.6	-0.51	-7.5 to +3.7
PFHxA	0.9995	0.05–40	+5.8	+1.1	-13 to +14
PFHpA	0.9997	0.1–40	+2.4	-1.2	-8.9 to +4.2
PFOA	0.9999	0.5–40	-6.6	-0.3	-6.6 to +2.4
PFNA	0.9997	0.01–40	+7.6	+0.24	-13 to +11
PFDA	0.9997	0.05–40	+13	+0.74	-14 to +13
PFUnDA	0.9997	0.01–40	+9.1	-1.07	-23 to +9.1
PFDoDA	0.9995	0.01–40	-24	-1.66	-24 to +16
PFTTrDA	0.9980	0.01–40	-7.6	+0.67	-28 to +18
PFTeDA	0.9997	0.01–40	+8.0	-0.99	-17 to +8.0
PFHxDA	0.9992	0.01–40	-4.7	-1.6	-11 to +15
PFOcDA	0.9964	0.01–40	-11	-4.5	-11 to +13
PFBS	0.9999	0.01–40	+9.1	+0.36	-7.1 to +9.1
PFHxS	0.9998	0.01–40	+0.69	+0.35	-4.3 to +6.5
PFOS	0.9999	0.01–40	+5.1	-0.51	-7.1 to +5.1
PFDS	0.9985	0.01–40	+19	+3.0	-7.0 to +19
FOSA	0.9998	0.01–40	-13	+0.70	-13 to +11
6:2 FTUA	0.9993	0.1–40	-4.6	-0.45	-8.8 to +15
8:2 FTUA	0.9995	0.05–40	+16	+0.80	-9.7 to +16
5:3 FTCA	0.9984	0.5–40	+31	+2.2	-12 to +31
7:3 FTCA	0.9989	0.1–40	+47	+1.6	-16 to +47
PFOAB	0.9966	0.1–40	+48	+4.2	-16 to +48
PFOSB	0.9961	0.5–40	+22	+4.3	-10 to +22
PFOANO	0.9977	0.1–40	+31	+3.5	-13 to +31
PFOSNO	0.9958	0.5–40	+37	+4.9	-12 to +37
PFOAAmS	0.9947	1–40	+40	+4.6	-14 to +40
PFOSAmS	0.9962	0.5–40	+38	+4.1	-11 to +38
PFOSAm	0.9981	0.5–40	+19	+3.0	-8.8 to +19

Table S10. Detailed PFAS concentrations in sediment samples in Lake Mégantic close to the accident site (“lake”) and along the Chaudière river (“river”) (KP: kilometric point since Chaudière river source near the town of Lac-Mégantic). Concentrations were blank-corrected, when applicable. Sediment organic carbon content (OC) data are also provided, when available. Compounds of detection frequency = 0 % are not shown.

Sample code	365	08_01	23_01	29_01	44_01	10_01	02_01	34_02	112	16_01	08_02	49_01	56_01
Location	lake	lake	lake	lake	lake	river	river	river	river	river	river	river	river
KP	-	-	-	-	-	0.61	17.78	30.78	56.94	82.63	84.62	84.79	91.46
OC (%)	0.11	NA*	6.67	7.52	0.51	0.25	0.14	0.225	0.23	0.17	0.55	1.82	0.07
PFPeA	ND**	ND	ND	ND	ND	0.053	0.012	ND	0.007	ND	ND	ND	0.015
PFHxA	ND	ND	ND	ND	ND	0.024	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PFHpA	ND	ND	0.005	ND	0.011	0.019	0.003	0.003	0.005	ND	0.004	ND	0.001
PFNA	ND	ND	0.017	ND	0.012	ND	ND	ND	0.019	ND	ND	ND	ND
PFDA	0.001	ND	0.006	ND	0.002	0.006	ND	ND	0.005	0.003	ND	0.013	0.004
PFUnDA	0.006	0.017	0.031	0.005	0.010	0.009	0.003	0.005	0.003	0.006	0.004	0.015	0.008
PFDoDA	0.005	0.011	0.013	0.011	0.006	0.007	0.005	ND	ND	ND	0.008	0.008	ND
PFTTrDA	0.005	0.012	0.022	0.010	0.006	0.007	0.011	0.006	0.005	0.003	0.005	0.009	0.006
PFTeDA	ND	0.003	0.011	0.006	0.005	0.003	0.031	ND	0.005	ND	0.005	0.006	0.002
PFHxDA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.039	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PFOcDA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.080	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PFHxS	0.001	0.001	0.001	ND	ND	0.001	ND	0.001	ND	0.001	ND	ND	0.001
PFOS	0.004	0.007	0.013	0.006	0.005	0.003	0.006	0.005	0.009	0.009	0.009	0.028	0.005
PFDS	ND	ND	0.008	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.004	ND
FOSA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.001	ND	ND	ND	ND	0.001	ND
6:2 FTA	ND	ND	ND	ND	ND	0.085	ND	ND	0.038	ND	0.002	0.006	ND
8:2 FTA	0.007	ND	ND	ND	ND	0.051	ND	ND	0.014	0.006	ND	0.003	ND
6:2 FTAB	ND	0.029	ND	ND	ND	0.099	ND	ND	0.087	0.036	ND	0.020	0.028
8:2 FTAB	0.48	0.17	ND	ND	0.076	0.80	ND	0.046	0.19	0.26	0.090	0.30	0.028
10:2 FTAB	0.58	0.057	ND	ND	0.13	1.2	ND	0.021	0.17	0.22	0.047	0.40	ND
12:2 FTAB	0.11	ND	ND	ND	0.021	0.18	ND	ND	0.027	0.026	ND	0.23	ND
7:3 FTB	ND	ND	ND	ND	ND	0.052	ND	ND	0.066	ND	ND	ND	ND
9:3 FTB	0.22	0.13	ND	ND	ND	0.49	ND	0.039	0.24	0.12	0.083	0.1648	0.039
11:3 FTB	ND	ND	ND	0.11	0.053	0.62	0.32	ND	ND	ND	ND	0.22	ND
13:3 FTB	ND	ND	ND	ND	ND	0.048	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5:1:2 FTB	ND	ND	ND	ND	ND	0.041	ND	ND	0.062	ND	ND	ND	ND
7:1:2 FTB	ND	0.063	ND	ND	ND	0.24	ND	0.045	0.28	0.059	ND	0.0177	ND
9:1:2 FTB	1.4	0.59	ND	ND	0.28	3.1	0.096	0.24	0.98	0.78	0.42	1.0	0.14
11:1:2 FTB	ND	ND	ND	0.62	0.23	2.5	1.5	0.49	0.16	ND	0.30	1.1	ND
13:1:2 FTB	ND	ND	ND	0.12	ND	0.24	0.13	ND	ND	ND	ND	0.22	ND
62 FTSHA sulfoxide	ND	ND	ND	0.035	ND	0.21	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
82 FTSHA sulfoxide	ND	ND	ND	ND	ND	0.056	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
62 FTSHA	ND	ND	ND	0.33	ND	0.60	0.12	ND	ND	ND	ND	ND	ND
82 FTSHA	ND	ND	ND	ND	ND	0.026	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8:2 FTSA	ND	ND	ND	0.013	0.009	0.024	0.022	0.013	0.017	ND	ND	0.016	ND
10:2 FTSA	ND	ND	ND	0.031	0.012	0.069	0.046	0.022	0.020	ND	ND	0.057	ND
ΣPFAS	2.8	1.1	0.13	1.3	0.86	11	2.4	0.93	2.4	1.5	0.97	3.9	0.28

*NA: not available. **ND: not detected.

Table S11. Summary of retention time (RT, min) and deviation from nominal mass (δ , ppm) of detected suspect PFASs.

	RT (min)	δ (ppm)
Anionic PFASs		
9:3 FTCA	9.28	3.49
8:2 FTSA	7.07	1.67
10:2 FTSA	8.05	1.96
10:2 FTSAS	8.82	0.32
10:2 FTSAS sulfoxide	7.92	1.62
8:2 FOSA	8.26	3.32
10:2 FOSA	9.33	2.27
Cationic PFASs		
6:2 FTSHA	6.75	-0.71
6:2 FTSHA-sulfoxide	5.87	-0.59
8:2 FTSHA	7.74	-1.39
8:2 FTSHA-sulfoxide	6.9	-0.42
6:2-M1 (6:2 FTA)	6.39	-3.22
8:2-M1 (8:2 FTA)	7.4	-1.92
10:2-M1 (10:2 FTA)	8.31	-2.45
8:2-M2	7.31	-4.17
Zwitterionic PFASs		
6:2 FTAB	6.34	-0.53
8:2 FTAB	7.35	-0.65
10:2 FTAB	8.27	-0.67
12:2 FTAB	9.09	-0.98
7:3 FTB	6.61	0.33
9:3 FTB	7.64	-0.65
11:3 FTB	8.59	-1.11
13:3 FTB	9.36	-1
7:1:2 FTB	6.67	-2.63
9:1:2 FTB	7.7	-0.98
11:1:2 FTB	8.65	-1.05
13:1:2 FTB	9.41	-0.87

Table S12. Field-based biota to sediment accumulation factors (BSAF) (mean \pm SD) of legacy and infrequently reported PFASs in adult and juvenile white suckers.

	BSAF	BSAF
	adult white sucker	juvenile white sucker
	Muscle	Whole body
<i>'Legacy' PFASs</i>		
PFDA	34	917 \pm 1300
PFUnA	162 \pm 95	253 \pm 163
PFDoA	62 \pm 22	122 \pm 66
PFTTrDA	22 \pm 5	61 \pm 24
PFTeDA	15	29
PFHxS	15	11
PFOS	234 \pm 64	469 \pm 258
PFDS	NA*	25
FOSA	59 \pm 22	49
<i>Suspect PFASs</i>		
8:2 FTSA	23 \pm 8	58 \pm 19
10:2 FTSA	27 \pm 11	70 \pm 44
8:2 FTAB	0.035 \pm 0.018	NA
10:2 FTAB	0.21 \pm 0.068	NA
9:3 FTB	0.18 \pm 0.10	NA
11:3 FTB	0.22 \pm 0.040	NA
7:1:2 FTB	0.08	NA
9:1:2 FTB	0.38 \pm 0.15	2.7 \pm 2.9
11:1:2 FTB	0.35 \pm 0.12	NA

*NA: not available

RÉSUMÉ

Les tensioactifs poly- et perfluoroalkylés (PFAS) sont des composés d'origine anthropique produits à partir des années 1950 et qui sont désormais considérés comme des polluants ubiquistes. La première partie de ce travail a consisté à optimiser et valider des procédures pour l'analyse ultra-trace des PFAS. Ces méthodes ont ensuite été utilisées afin d'apporter de nouveaux éléments de réponse sur l'occurrence et la dynamique des PFAS dans les environnements aquatiques. Une attention particulière a été accordée aux valeurs censurées ($<LD$). Dans les eaux de surface et les sédiments, à l'échelle nationale, le perfluorooctane sulfonate (PFOS) s'est avéré prédominant parmi les acides perfluoroalkylés (PFAA) considérés ; la fraction organique du sédiment est apparue un facteur de contrôle clé des teneurs sédimentaires. L'utilisation des cartes auto-organisatrices de Kohonen a facilité la synthèse des résultats et les comparaisons entre sites. A une échelle plus locale, ces travaux ont permis de cartographier la contamination sédimentaire d'un estuaire macrotidal et d'étudier les facteurs de contrôle de leur distribution. La dynamique spatio-temporelle des PFAS et leur transfert aux premiers maillons trophiques ont été évalués en milieu fluvial urbain (la Seine) et en milieu estuarien (la Gironde). La détermination des facteurs d'amplification trophique en estuaire de Gironde confirme le caractère bioamplifiable du PFOS et de certains PFAA à longue chaîne. Le dernier axe de ces travaux concernait la recherche de PFAS d'intérêt émergent zwitterioniques et cationiques ; des résultats préliminaires semblent dissiper les inquiétudes concernant leur potentiel de bioaccumulation.

Mots clés : pollution des écosystèmes aquatiques, contaminants d'intérêt émergent, tensioactifs fluoroalkylés, bioaccumulation, optimisation et validation de méthodes analytiques

ABSTRACT

Poly- and perfluoroalkyl surfactants (PFAS) are anthropogenic compounds that have been used since the 1950s in a variety of applications and that have emerged as ubiquitously distributed contaminants. The first aim of this work was to optimize and validate analytical procedures for the trace-level determination of PFAS. These methods were then applied to various sets of environmental samples, providing new elements to document the occurrence and environmental fate of PFAS in aquatic ecosystems. In terms of statistical analyses, a special care has been devoted to incorporate non-detects (data $<LOD$). In French surface waters and sediments, perfluorooctane sulfonate (PFOS) was the prevailing perfluoroalkylated acid (PFAA); sediment organic carbon fraction was a key controlling factor of PFAS sedimentary levels. Kohonen self-organizing maps were used to highlight similarities and differences between sites, providing evidence for distinctive features, sometimes at watershed scale. A mapping of PFAS in sediments was established in a macrotidal estuary, along with their partitioning behavior in the water column. The spatio-temporal dynamics of PFAS and transfer to the first trophic levels were investigated in an urban freshwater hydrosystem (the Seine River) and in an estuarine environment (Gironde estuary). In the Gironde estuary, trophic magnification factors (TMF) were significantly >1 for PFOS and several long-chain PFAA, providing new evidence for their biomagnification. The last theme addressed in this work was the analysis of newly-identified cationic and zwitterionic PFAS ; preliminary evidence seem to dispel concerns about the bioaccumulation potential of the latter.

Keywords: environmental pollution, contaminants of emerging concern, fluoroalkylated surfactants, bioaccumulation, method optimization and validation